

Aus der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe - Großhadern
der Ludwig-Maximilians-Universität München
Direktor: Prof. Dr. med. Sven Mahner

**Prävalenz der Interleukine
IL-4, IL-8, IL-10 und IL-12 im Speichel
bei Patienten mit chronischer Parodontitis
und einer parodontitisfreien Probandengruppe
sowie ihre Bedeutung als diagnostische Parameter**

Dissertation
zum Erwerb des Doktorgrades der Zahnheilkunde
an der Medizinischen Fakultät der
Ludwig-Maximilians-Universität zu München

vorgelegt von
Gerhardt Werner Klein M.Sc.
aus Bukarest

2017

Mit Genehmigung der Medizinischen Fakultät
der Universität München

Berichterstatter: Prof. Dr. med. Dr. med. habil. Dr. h.c.
Ernst Rainer Weissenbacher

Mitberichterstatter: Prof. Dr. Dr. Matthias Folwaczny

Dekan: Prof. Dr. med. dent. Reinhard Hickel

Tag der mündlichen Prüfung: 19.01.2017

In Liebe
meinen Eltern, meiner Lebensgefährtin Petra
und meinen Großeltern gewidmet

INHALTSVERZEICHNIS

1	Einleitung	01
1.1	Definition, Ätiologie und Verlauf der Parodontitis	01
1.2	Mikrobiologie der Parodontitis	04
1.3	Immunologie der Parodontitis	10
1.3.1	Interleukin-4 (IL-4)	16
1.3.2	Interleukin 8 (IL-8)	17
1.3.3	Interleukin-10 (IL-10)	19
1.3.4	Interleukin-12 (IL-12)	20
1.4	Genetische Prädisposition	21
1.5	Interaktion der Parodontitis mit anderen Erkrankungen	24
1.6	Epidemiologie der Parodontitis	27
1.7	Diagnostik der Parodontitis	30
2	Fragestellung	36
3	Material und Methode	37
3.1	Material	37
3.2	Probandengut und Untersuchung der Probanden	40
3.2.1	Approximalraum-Plaque-Index (API)	43
3.2.2	Sulkus-Blutungs-Index (SBI)	44
3.2.3	Parodontaler Screening Index (PSI)	45
3.3	Probenentnahme	45
3.4	Verarbeitung der Proben	46
3.5	Untersuchung der Proben – Sandwich-enzyme-linked immunosorbent assay (Sandwich-ELISA)	46
3.6	Verarbeitung der Proben	48
3.6.1	Quantitative Bestimmung des IL-4	48
3.6.2	Quantitative Bestimmung des IL-8	50
3.6.3	Quantitative Bestimmung des IL-10	52

3.6.4	Quantitative Bestimmung des IL-12	55
3.7	Statistische Analyse	57
4	Ergebnisse	60
4.1	Erstellen der Standardkurven	60
4.2	Stichprobe: Erkrankte vs. Gesunde	65
4.3	Alter	66
4.4	Geschlechterverteilung	67
4.5	Anzahl der Zähne	69
4.6	Parodontaler Screening Index (PSI)	70
4.7	Sulkus-Blutungs-Index (SBI)	71
4.8	Approximalraum-Plaque-Index (API)	72
4.9	Anzahl betroffener Zähne bei Erkrankten	73
4.10	Tabakkonsum	74
4.11	Interleukin-4 (IL-4)	75
4.12	Interleukin-8 (IL-8)	76
4.13	Interleukin-10 (IL-10)	77
4.14	Interleukin-12 (IL-12)	78
4.15	Korrelation zwischen Geschlecht und Prävalenz der Interleukine im Speichel	79
4.16	Korrelation zwischen Alter und Prävalenz der Interleukine im Speichel	79
4.17	Korrelation zwischen Tabakkonsum und Prävalenz der Interleukine im Speichel	79
4.18	Multivariate Analyse	80
4.18.1	Test-Modell 1: IL-4, IL-8, IL-10 und IL-12	82
4.18.2	Test-Modell 2: IL-4, IL-8, IL-10, IL-12, Alter, Raucher und Geschlecht	84
5	Diskussion	87

6	Zusammenfassung	124
7	Abkürzungen	127
8	Literaturverzeichnis	129
9	Darstellungsverzeichnis	186

1 Einleitung

1.1 Definition, Ätiologie und Verlauf der Parodontitis

Parodontitis ist zweifelsfrei eine der am weitesten verbreiteten Erkrankungen weltweit. Bei dieser entzündlichen Erkrankung des Zahnhalteapparats (Parodont) kommt es zu einer irreversiblen Destruktion der Strukturen des Zahnhalteapparats, was auch als Attachmentverlust bezeichnet wird. Die Tatsache, dass Zähne unter den Strukturen des Organismus eine anatomische Besonderheit darstellen, indem sie als Hartgewebsstruktur die äußere Epithelbarriere durchbrechen, begünstigt das Auftreten einer bakteriellen Infektion (Bartold, Walsh et al. 2000). Das Parodont stellt somit eine Eintrittspforte für Bakterien und ihre Produkte dar. Die Zerstörung parodontaler Strukturen vergrößert die exponierte Zahnoberfläche, die von Keimen besiedelt werden kann. Es entstehen Parodontaltaschen, in denen die oralen Mikrobiota vor Reinigung geschützt sind. Mit zunehmender Zerstörung vergrößern sich die Parodontaltaschen, was sich vorteilhaft auf die bakterielle Besiedlung auswirkt, und der subgingivale Biofilm breitet sich entlang der Wurzeloberfläche in die Tiefe aus. Wird dieser Teufelskreis nicht mit therapeutischen Mitteln durchbrochen, führt er oft zur Lockerung von Zähnen bis hin zu ihrem Verlust. Die Parodontitis kann generalisiert oder lokalisiert auftreten und weist unterschiedliche klinische Ausprägungs- und Verlaufsformen auf, sodass eine entsprechende Nomenklatur festgelegt wurde. Im weiteren Verlauf der hier vorliegenden Untersuchung wird lediglich die chronische Form dieser Erkrankung angesprochen, da sie die weitaus häufigste Form darstellt. Die chronische Parodontitis ist bei Betrachtung einer durchschnittlichen Verlaufsform durch ein langsames Voranschreiten der Destruktion parodontaler Strukturen (Löe, Anerud et al. 1986), einen schubweisen Verlauf sowie subgingivale Beläge (Silness et Löe 1964) charakterisiert. Häufig manifestiert sich das Voranschreiten dieser Erkrankung in einem langsamen, progredienten parodontalen Attachmentverlust (Löe, Anerud et al. 1986), der etwa 0,1 bis 0,3 mm pro Jahr beträgt (Brown et Löe 1993). Es besteht jedoch Uneinigkeit darüber, ab welcher Taschensondierungstiefe eine Parodontitis vorliegt.

In der akuten Phase der Parodontitis sind die fünf Entzündungszeichen (tumor, rubor, dolor, calor und functio laesa) zu beobachten, sodass es zu einer Schwellung und

Rötung der marginalen Gingiva kommt. Meist kann bei Berührung mit Leichtigkeit eine Blutung provoziert werden. Im fortgeschrittenen Stadium kann der Verlust parodontaler Strukturen zur Ausbildung von Rezessionen führen. Die dadurch freiliegenden Zahnhälse verursachen sowohl funktionelle Komplikationen (erhöhte Sensibilität im Bereich der Zahnhälse, vermehrte Plaqueretention in den Zahnzwischenräumen) als auch ästhetische Einbußen. Besonders verhängnisvoll erweist sich für die Betroffenen die Tatsache, dass das Ausmaß der Destruktion meist in gleichem Umfang auftritt wie die Zunahme der Schwellung der marginalen Gingiva. Diese auftretende Schwellung gleicht den zunehmenden Volumenverlust aus und kaschiert somit die ästhetische Einbuße und den Verlust knöcherner Strukturen. Dem Betroffenen bleibt die Veränderung dadurch häufig verborgen. Überschreitet der Knochenabbau etwa die Hälfte der Wurzellänge bzw. tritt eine Lockerung ein, so ist die Prognose eines derart betroffenen Zahns ungünstig. Parodontaltaschen erschweren die physiologische Selbstreinigung drastisch, sodass eine Reinigung durch den Patienten im Rahmen der häuslichen Zahnpflege bereits bei Taschen geringfügiger Tiefe unmöglich wird. Durch Mineralisation der weichen dentalen Plaque entsteht Zahnstein. In subgingivaler Lokalisation werden derartige Beläge als Konkreme bezeichnet. Die Entfernung der Beläge führt in den meisten Fällen zu einer raschen Remission der Entzündung (Löe, Theilade et al. 1965).

Bereits der erste wissenschaftliche Beschreiber der Parodontitis, Pierre Fauchard, schrieb 1746 der Parodontitis eine lokale Ätiologie zu (Fauchard 1746). Er erkannte empirisch, dass dentale Plaque und mangelnde Mundhygiene ursächlich für ihre Entstehung waren. Diese Beobachtung, dass die weit überwiegende Anzahl entzündlicher Vorgänge im Bereich der marginalen Gingiva durch gründliche Reinigung zum Stillstand gebracht werden kann, hat in ihrem Kern bis heute Bestand (Silness, Löe et al. 1964; Löe, Theilade et al. 1965; Page 1986). Plaqueakkumulation löst zuverlässig reproduzierbar eine Entzündungsreaktion aus (Löe, Theilade et al. 1965). Bei dieser bis vor etwa zwei Dekaden vorherrschenden Sichtweise handelte es sich um die Ansicht, dass allein die Plaquemenge und somit die Bakterienlast ausschlaggebend für den Parodontalzustand ist (Theilade, Wright et al. 1965; Slots 1977; Loesche et Syed 1978;

Moore, Holdemann et al. 1982). Diese Sichtweise wird als *unspezifische Plaquehypothese* bezeichnet. Erkenntnisse aus diversen epidemiologischen Studien brachten umwälzende Neuerungen, sodass unter anderen Loe et al. diese widerlegen konnten. Sie wiesen nach, dass bei einer Population von 480 Plantagenarbeitern auf Sri Lanka, die keinen Zugang zu zahnmedizinischer Versorgung hatten, in einem Zeitraum von 15 Jahren die Progredienz der Parodontitis nicht direkt mit Plaquemenge und Bakterienlast korrelierte (sog. Sri-Lanka-Studie) (Loe, Anerud et al. 1986). Sie stellten fest, dass 81 % der Studienpopulation, und somit die weit überwiegende Mehrheit, lediglich eine chronische Form der Parodontitis mit nur moderater Progression des Attachmentverlusts entwickelten. Bei einer Minderheit von 11 % der Studienpopulation war sogar keine nennenswerte Progression des Attachmentverlusts zu beobachten (Loe, Anerud et al. 1986). Es setzte sich die Erkenntnis durch, dass lediglich bei prädisponierten Individuen eine Verschiebung des oralen Bakterienspektrums stattfindet, bei der sich die Anzahl der gramnegativen Bakterien deutlich erhöht (Slots 1979). *Actinobacillus actinomycetemcomitans*, nach neuerer Bezeichnung *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, wurde in diesem Zusammenhang als Keim mit besonders hoher Pathogenität betrachtet (Slots et Listgarten 1988). Doch auch die Erkenntnis, dass spezielle parodontopathogene Bakterien die Entstehung der Parodontitis auslösen (*spezifische Plaquehypothese*) (Slots 1979), konnte das Auftreten einer Parodontitis nicht hinreichend erklären. Die Beobachtung, dass die Anwesenheit pathogener Keime bei zahlreichen Patienten nicht zwangsweise zum Ausbruch der Parodontitis führte (Slots, Emrich et al. 1985), ließ auch an dieser Hypothese Zweifel aufkommen. Es blieb die Erkenntnis, dass die Parodontitis eine Infektionserkrankung mit spezifischen Erregern darstellt.

Dem heutigen Kenntnisstand zufolge ist die Parodontitis eine entzündliche, polymikrobielle (Haffajee et Socransky 1994, Socransky et al. 1998, Papanou 2002), opportunistische Infektionserkrankung des Zahnhalteapparats, die sehr häufig einen chronischen Verlauf aufweist. Voraussetzung für ihre Manifestation ist neben dem Vorhandensein parodontopathogener Bakterien eine Störung des oralen Immunsystems (Kinane 2001). Opportunistische Keime können ihre schädigende Virulenz folglich nur

dann entfalten, wenn das Immunsystem des Wirts bestimmte Voraussetzungen aufweist. Neben der direkten Schädigung des Parodontalgewebes triggern Virulenzfaktoren bestimmter Keime eine kaskadenartige und unkontrollierte Immunantwort aus, in deren Verlauf die Ausschüttung körpereigener Substanzen die weitere Zerstörung parodontaler Strukturen bewirkt. Aus bislang nicht bekannten Gründen verliert das Immunsystem bestimmter prädisponierter Individuen die Fähigkeit zur Toleranz und trägt zur parodontalen Destruktion maßgeblich bei. Es kommt zur Ausschüttung körpereigener, destruktiv wirkender Enzyme (neutrale Phosphatasen, Kollagenasen), osteoklastenaktivierender Substanzen (alkalische und saure Phosphatase) sowie bestimmter Zytokine (Interleukin-6 (IL-6), Interleukin-8 (IL-8), Interleukin-1 alpha (IL-1 α), Prostaglandine, Tumornekrosefaktor- α (TNF- α)). Begünstigt wird der Ausbruch der Erkrankung durch eine Anzahl exogener und endogener Risikofaktoren wie mangelhafte Mundhygiene, Plaqueretention durch insuffiziente Restaurationen, Rauchen, genetische Prädisposition, systemische Erkrankungen etc. Insbesondere die Ausprägung genetischer Varianten (Polymorphismen) bestimmter Komponenten des Immunsystems ist von maßgeblichem Einfluss auf die Immuntoleranz eines Individuums und stellt somit einen entscheidenden Risikofaktor für das Auftreten und die Progression der Parodontitis dar. Zu erwähnen ist auch, dass unterschiedliche Rassen und Ethnien unterschiedlich stark betroffen sind. Der Verlust der immunologischen Toleranz, der Befall durch parodontopathogene Bakterien sowie eine beachtliche Anzahl endogener und exogener Faktoren ergeben das Bild eines komplexen, multifaktoriellen Geschehens.

1.2 Mikrobiologie der Parodontitis

Im Vergleich zur Flora anderer Körperoberflächen zeichnet sich die orale Mikroflora sowohl durch Artenreichtum als auch durch Komplexität aus (Marsh 2005, Ten Cate 2006). Mehr als 500 Bakterienarten bevölkern die menschliche Mundhöhle (Moore et Moore 1994, Socransky et Haffajee 1994), jedoch lediglich eine sehr geringe Anzahl dieser Bakterien ist als parodontopathogen einzustufen. Zwischen der Anzahl parodontopathogener, gramnegativer anaerober Keime und der Schwere der

Parodontitis konnten zahlreiche Autoren eine eindeutige Korrelation nachweisen (Dzink, Tanner et al. 1985; van Winkelhoff, van Steenberghe et al. 1988; Wolff, Liljemark et al. 1988; Dahlen 1993; van der Velden, Abbas et al. 1993; Ximenez-Fyvie, Haffajee et al. 2000).

Die Bakterien der oralen Mundflora organisieren sich auf den Zahnflächen in Form eines äußerst widerstandsfähigen Biofilms, der die Mikrobiota auf komplexe Weise beschützt und ernährt. Um den Anpassungsstress der partizipierenden Keime zu verringern, sind Biofilme in der Lage, innerhalb ihrer Matrix Areale mit unterschiedlichem pH-Wert, Sauerstoffpartialdruck und Redoxpotenzial zu etablieren (Darveau, Tanner et al. 1997). Innerhalb des Biofilms sind Bakterien dadurch weitgehend resistent gegen Pharmaka, sodass eine etwa 500-fach höhere Resistenz gegen Antibiotika besteht als im planktonischen Zustand (Anwar, Strap et al. 1992; Donlan et Costerton 2002). Zusätzlich bewirkt eine als Quorum sensing bezeichnete chemische Kommunikation zwischen den Mikrobiota eine Regulation der Virulenz einzelner Bakterien des Verbands durch Regulation der Sekretion von Pathogenitätsfaktoren (Davey et O'Toole 2000, Schauder et Bassler 2001, Winans et Bassler 2002; Federle et Bassler 2003). Mit der Untersuchung von 13.000 Plaqueproben konnten Socransky et al. nachweisen, dass bestimmte Bakterien in der Lage sind, ihre Partner, mit denen sie Biofilme bilden, selektiv zu bevorzugen (Socransky, Haffajee et al. 1998). Die Besiedlung der Zahnoberflächen beginnt mit Pionierkeimen, die zu den oralen Streptokokken gehören, darauf folgen Aktinomyzeten und Veillonellen. Die pathogenen Keime gehören zu den Spätbesiedlern.

Bei parodontal Erkrankten unterscheidet sich die Mikroflora des subgingivalen Bereichs deutlich von der des supragingivalen Bereichs, sodass subgingival Biofilme besonderer Pathogenität zu beobachten sind (Socransky, Haffajee et al. 1998). Im subgingivalen Kompartiment ist eine Verschiebung von einer komensalen Flora mit überwiegend grampositiven Keimen zu einer pathogenen, von gramnegativen Anaerobiern geprägten Flora zu beobachten (Slots 1979; Ezzo et Cutler 2003). Als orale Keime mit höchster Pathogenität werden *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Aac), *Porphyromonas gingivalis* (Pg) und *Tannerella forsythia* (alte Bezeichnung: *Bacteroides forsythus* oder

Tanarella forsythensis) betrachtet (Consensus report 1996). Eine gleichzeitige Kolonisation mit *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia* und *Treponema denticola* erhöht das Risiko für einen progredienten parodontalen Attachmentverlust signifikant (Haffajee et al. 1994; Slots, Ashimoto et al. 1995; Fujise, Hamachi et al. 2002), sodass diese Keime als die sogenannten 5 Leitkeime der Parodontitis bezeichnet werden. Die Untersuchung von 13.000 Plaqueproben auf Assoziation oraler Keime zu Parodontitis veranlasste Socransky et al., Bakterien nach ihrer Pathogenität und ihrem Besiedlungszeitpunkt in 6 farblich kodierte Komplexe zusammenzufassen (Socransky, Haffajee et al. 1998). In aktiven Taschen entdeckten sie vermehrt *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* und *Treponema denticola*, die eine auffällige Korrelation zu Taschentiefe und Sondierungsblutung aufwiesen (Socransky, Haffajee et al. 1998). Diese drei Mikrobiota stellen innerhalb der Komplextheorie nach Socransky den sogenannten roten Komplex dar. Auch andere Autoren bescheinigten diesem Bakterienkomplex eine besonders hohe Assoziation zur Parodontitis (Holt et al. 2005; Bodet C, Chandad et al. 2007; Mineoka, Awano et al. 2008; Vettore, Leão et al. 2010). Ferreira et al. konnten nachweisen, dass die Anwesenheit dieser Keime im befallenen Gewebe zu einer erhöhten Ausschüttung des IL-1 führt (Ferreira, Trombone et al. 2008). Der orangefarbene Komplex umfasst Bakterien geringerer Virulenz, die als Brückenspezies bezeichnet werden, da ihr Stoffwechsel die Lebensgrundlage für Keime des roten Komplexes schafft. Zu diesem Komplex zählen *Prevotella intermedia*, *Peptostreptococcus micros*, *Fusobacterium nucleatum*, *Fusobacterium nuc. polymorphum*, *Fusobacterium nuc. vincentii*, *Campylobacter rectus*, *Eubacterium nodatum*, *Campylobacter gracilis*, *Campylobacter showae*, *Prevotella nigrescens*, *Streptococcus constellatus* und *Fusobacterium periodonticum*.

Virulenzfaktoren parodontopathogener Mikroorganismen induzieren die Entstehung und Progression einer Parodontitis, indem sie die Wirtsabwehr zum Teil umgehen, unterdrücken, fehlleiten und eine überschießende Immunantwort hervorrufen (Hajishengallis, Wang et al. 2008; Wang, Krauss et al. 2010; Deschner et al. 2011; Hajishengallis 2011; Eskin, Hajishengallis et al. 2007; Davey, Liu et al. 2008; Li,

Michel et al. 2008). Die Keime *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*, *Porphyromonas gingivalis*, *Tannerella forsythia* und *Treponema denticola* entwickeln ihre besonders hohe Virulenz unter anderem durch die Fähigkeit, in das Gewebe des Wirts einzudringen. Von Keimen freigesetzte Enzyme wie beispielsweise neutrale Proteasen, saure Hydrolasen, Lipasen und DNAasen wirken direkt gewebszerstörend. Auch Metaboliten des Bakterienzellstoffwechsels wie Indol, Ammoniak und Schwefelwasserstoff sowie organische Säuren wie beispielsweise Butyrat und Propionat haben eine gewebedestruktive Wirkung (Ishikawa, Nakashima et al. 1997). Gehen Bakterien unter, so werden weitere bakterielle Toxine freigesetzt wie beispielsweise Lipopolysaccharide (LPS). Diese Zerfallsprodukte lösen im Wirtsgewebe eine starke Reaktion des Immunsystems aus, indem sie die verstärkte Sezernierung von Zytokinen wie IL-1 β , Prostaglandin E2 (PGE-2) und TNF- α induzieren (Agarwal, Piesco et al. 1995). Ein weiteres bakterielles Endotoxin stellen Proteoglykane dar, die ebenfalls eine heftige Aktivierung des Immunsystems bewirken. Das Peptid N-Formyl-Methionyl-Leucyl-Phenylalanin wiederum besitzt die Fähigkeit, auf Granulozyten positiv chemotaktisch zu wirken, und regt diese zur Ausschüttung lysosomaler Enzyme an.

Aggregatibacter actinomycetemcomitans ist ein fakultativ anaerobes und gewebsinvasives Bakterium (Slots et Genco 1984; Christersson, Albini et al. 1987). Dieser Keim besitzt eine große Anzahl unterschiedlicher Virulenzfaktoren (Slots et Genco 1984; Fives-Taylor, Meyer et al. 1999), was seine hohe Pathogenität erklärt. Zudem ist die Virulenz von der jeweils vorliegenden klonalen Variante dieses Keims abhängig (Machleidt, Müller et al. 1999). Die Virulenzfaktoren dieses Keims lassen sich in vier Kategorien unterteilen: Faktoren, die die Kolonisation der Mundhöhle sowie das Überleben in diesem Milieu ermöglichen, Faktoren, die mit der Abwehr des Wirts interagieren, Faktoren, die die Zerstörung des Wirtsgewebes herbeiführen, und Faktoren, die eine Erholung des Wirtsgewebes inhibieren (Fives-Taylor, Meyer et al. 1999). Zur Gruppe der Virulenzfaktoren, die mit dem Immunsystem des Wirts interagieren, gehören Leukotoxine, chemotaktische Inhibitoren, immunsuppressive Proteine und Fc-bindende Proteine. Hier sei besonders das Leukotoxin hervorgehoben, das in entsprechender Konzentration die Zelllyse von Granulozyten, Monozyten und

Lymphozyten bewirkt (Henderson, Nair et al. 2003). Den Effekt der Immunsuppression bewirken Virulenzfaktoren des *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* durch eine Inhibition der Chemotaxis sowie eine Inhibition der Lymphozytenaktivierung. Besondere Aufmerksamkeit erregt ein weiteres Toxin des *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: das sogenannte Cytolethal Distending Toxin. Dieses Toxin unterdrückt den Zellzyklus eukaryonten Zellen durch komplexe Mechanismen, bei denen es zu einer zielgerichteten und limitierten Zerstörung der DNA der Wirtszelle kommt. Des Weiteren kann dieses Toxin die Apoptose von Lymphozyten herbeiführen. Es spielt bei chronischen Infekten eine besondere Rolle (Ohara, Oswald et al. 2004). Diese Virulenzfaktoren und Pathomechanismen sind nur ein Schlaglicht auf die komplexe Gesamtheit der Interaktionen zwischen *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* und dem Wirtsorganismus, verdeutlichen jedoch die besonders hohe Virulenz dieses Keims. Trotzdem ist dieser Keim in der Mundhöhle parodontal Erkrankter wie auch Gesunder zu finden (Hölttä, Alaluusua et al. 1994), was die Tatsache verdeutlicht, dass pathogene Keime nur bei empfänglichen Individuen eine Parodontitis auslösen.

Porphyromonas gingivalis, ein strikt anaerobes und gewebsinvasives Bakterium, zeichnet sich durch eine hohe Anzahl sehr unterschiedlicher Virulenzfaktoren aus. Hervorzuheben sind Virulenzfaktoren, die das Immunsystem des Wirts stören. Dadurch besitzt *Porphyromonas gingivalis* die Eigenschaft, die unspezifische Abwehr zu behindern, indem es die Expression biochemischer Rezeptorstrukturen blockiert und sich somit im Wirtsgewebe weitgehend ungehemmt vermehren kann (Eskan, Hajishengallis et al. 2007; Davey, Liu et al. 2008). Weitere Virulenzfaktoren ermöglichen *Porphyromonas gingivalis*, die Abwehrmechanismen des Wirts zu umgehen, indem es zwischen verschiedenen Immunzellen vermittelt (Hajishengallis, Wang et al. 2008; Wang, Krauss et al. 2010; Hajishengallis 2011; Liang, Krauss et al. 2011). Dies ermöglicht dem Keim, im Wirtsgewebe zu überleben (Li et al. 2008). Mithilfe des freigesetzten Enzyms Alpha-Gingipain, einer Zysteinprotease, gelingt diesem Bakterium die Spaltung von Speichelsubstanzen zur Energiegewinnung. Dadurch entstehen Produkte, die auch anderen Bakterienarten zur Energiegewinnung

dienen. Alpha-Gingipain dient weiterhin sowohl dem Eindringen des Bakteriums in das Gewebe bzw. der Destruktion des Wirtsgewebes (Andrian et al. 2004, Dias et Al. 2008) als auch der Modulation der Wirtsabwehr (Guo et al. 2010). Zweifellos steht die Anwesenheit von *Porphyromonas gingivalis* in subgingivaler Plaque in hoher Korrelation zu Ausmaß und Progression der Parodontitis (Byrne, Dashper et al. 2009; Takeuchi Y, Umeda et al. 2001). Zwar ist dieser Keim nur selten im Zahnfleischsulkus Gesunder nachzuweisen (Van Winkelhoff, Loos et al. 2002), jedoch ergaben Studien den Hinweis, dass *Porphyromonas-gingivalis*-Stämme, die bei Parodontitispatienten nachgewiesen wurden, eine signifikant höhere Virulenz aufweisen als die bei gesunden Probanden entdeckten (Lin, Li et al. 2009). Ein Umstand, der dem genetischen Polymorphismus dieses Keims zu verdanken ist (Dolgilevich, Rafferty et al. 2011).

Auch das zur Gattung der Spirochäten gehörige *Treponema denticola* weist eine hohe Korrelation zu Ausmaß und Progression der Parodontitis auf (Byrne, Dashper et al. 2009; Takeuchi, Umeda et al. 2001). Dieser Keim ist hochbeweglich, dadurch gewebsinvasiv, und wirkt in hohem Maße zytotoxisch (Ishihara 2010). Als Virulenzfaktoren dienen eine hohe Anzahl unterschiedlicher Proteasen (Holt et Ebersole 2005; Ishihara 2010).

Tannerella forsythia, auch ein Vertreter des sogenannten roten Komplexes, ist ebenfalls ein stark parodontopathogener, anaerober und gewebsinvasiver Keim. Er bedient sich neben anderen Virulenzfaktoren einer Protease (Karilysin). Diese Protease ermöglicht den Abbau von Bindegewebe und die Störung des Immunsystems des Wirts (Karim, Kulczycka et al. 2010; Koziel, Karim et al. 2010).

Mikrobiota sind Auslöser parodontaler Entzündungsprozesse. Sie stellen eine notwendige, jedoch keine ausreichende Voraussetzung für eine Parodontitis dar (Kinane 2001). Trotz ihrer zentralen Bedeutung im Rahmen der Ätiologie der Parodontitis können parodontopathogene Bakterien nach derzeitigem Wissen lediglich als besonders großes, jedoch variables Risiko ohne Möglichkeit einer konkreten Quantifizierung betrachtet werden. Zudem greift auch die klonale Vielfalt parodontopathogener Mikrobiota in das komplexe Spiel zwischen Bakterien und Immunsystem des Wirts ein.

1.3 Immunologie der Parodontitis

Mit einer ersten Abwehrmaßnahme entgegnet die Immunabwehr des Wirtsorganismus den bakteriellen Noxen bereits außerhalb des parodontalen Gewebes im gingivalen Sulkus. Das Gingivaepithel, das im Bereich des Sulkus auch als Saumepithel bezeichnet wird, spielt dabei eine besondere Rolle, da es für die Rekrutierung der Abwehrzellen verantwortlich ist (Svanborg, Agace et al. 1994; Kornmann, Page et al. 1997; Zadeh, Nichols et al. 1999). Dessen Epithelzellen sind zu unspezifischen Abwehrmechanismen fähig, indem sie eine große Anzahl unterschiedlicher Entzündungsmediatoren und Enzyme wie etwa Zytokine, Amine und Plasmaproteasen sezernieren. Unter Einwirkung bakterieller Noxen sezernieren Endothelzellen, Epithelzellen und Fibroblasten vor allem IL-8, das als besonders potenter Lockstoff auf polymorphkernige Granulozyten einwirkt. Diese durchwandern das Gingivaepithel und etablieren sich extraepithelial als Abwehrwall. Durch Phagozytose können diese Abwehrzellen einzelne Mikroorganismen und deren Stoffwechselprodukte bereits außerhalb der Epithelbarriere bekämpfen. Das Eindringen von Bakterien bzw. ihren Toxinen in das Gewebe des Wirtsorganismus kann damit verlangsamt, im Idealfall sogar aufgehalten werden. Dieser Abwehrwall besteht hauptsächlich aus Granulozyten (polymorphkernige Leukozyten). Insbesondere die strenge Regulation von Diapedese und Chemotaxis der Granulozyten vermeidet eine irreversible Schädigung des Gewebes durch übermäßige Ansammlung entzündlichen Infiltrats im parodontalen Gewebe. Dieses Stadium wird als initiale Läsion bezeichnet. Bei ungestörter Plaqueakkumulation entsteht sie innerhalb von etwa vier Tagen. Die professionelle Beseitigung des Biofilms in diesem Stadium ermöglicht eine restitutio ad integrum. Klinisch betrachtet handelt es sich um eine Gingivitis, der Entzündungs- und Infektionsprozess ist reversibel und auf die weichen und oberflächlichen Anteile des Parodonts begrenzt. Der Ausgang dieser ersten Phase der Immunantwort ist von entscheidender Bedeutung für den weiteren Verlauf einer sich entwickelnden Parodontitis. Gelingt es mithilfe großer Mengen nachströmender neutrophiler Granulozyten, den Abwehrwall aufrechtzuerhalten und den Biofilm abzukapseln, so sistiert das Entzündungsgeschehen.

Die Widerstandsfähigkeit des Biofilms führt jedoch meist dazu, dass die zahlreich

zugeführten neutrophilen Granulozyten in großen Mengen scheitern und untergehen. Diese zugrunde gehenden Abwehrzellen setzen eine Vielzahl bioaktiver Substanzen frei, die den Infektions- und Entzündungsprozess aufrechterhalten oder gar zu seiner Amplifizierung führen. Es sind unter anderem Substanzen, die eine Erhöhung der Permeabilität des Saumepithels für größere Moleküle bewirken. Dadurch können nicht nur Toxine, sondern auch komplexere Strukturen wie gewebsinvasive Bakterien das Saumepithel penetrieren. Die Folge ist ein beträchtlicher Anstieg der Konzentration bakterieller Produkte, vor allem von Lipopolysacchariden, im Parodontalgewebe. Diese Noxen bewirken wiederum eine starke Erhöhung der Synthese und die Freisetzung weiterer Entzündungsmediatoren. Die geänderte Quantität und Qualität der sezernierten Mediatoren regt die Diapedese und Migration der Monozyten an und setzt weitere komplexe immunologische Prozesse kaskadenartig in Gang. Durch die chemotaktische Wanderung der Monozyten in das Parodontalgewebe kommt es zu einer erneuten Bildung eines Walls aus Abwehrzellen. Dieser zweite Schutzwall, ein entzündliches Infiltrat, das sich nun subepithelial befindet, besteht überwiegend aus Makrophagen. Unter anderem enthält dieses entzündliche Infiltrat auch signifikante Mengen an Lymphozyten, dendritischen Zellen und Blutplasma. Wegen der zunehmenden Rekrutierung von Makrophagen, Lymphozyten und dendritischen Zellen wird diese Phase im Verlauf der Parodontitis auch als immunologische Phase oder spezifische Phase der Immunantwort bezeichnet. Lokalisation und Zusammensetzung dieses Infiltrats ermöglichen auch die histologische Unterscheidung dieses immunpathologischen Stadiums vom vorherigen (Smith, Seymour et al. 2010). Es ist durch beginnende mikroskopische Zerstörungen parodontaler Strukturen und zahlenmäßig durch ein von Makrophagen dominiertes entzündliches Infiltrat gekennzeichnet. Diese Phase wird als frühe Läsion bezeichnet und tritt erst nach einer fortdauernden Plaqueakkumulation von etwa 4 bis 7 Tagen auf.

Im Verlauf der kaskadenartig ablaufenden immunologischen Prozesse einer Parodontitis nehmen Makrophagen eine Schlüsselposition ein. Als Vertreter der zellulären Immunabwehr sind diese Abwehrzellen sowohl der spezifischen als auch der unspezifischen Immunabwehr zuzurechnen. Zudem sind sie gleichfalls Vertreter der

erworbenen wie auch der angeborenen Immunabwehr. Auch bei der Destruktion parodontaler Gewebe spielen diese Zellen eine herausragende Rolle, sodass die Mechanismen ihrer Aktivierung bei der Ursachenforschung der Parodontitis von besonderem Interesse sind. Sie können bakterielle Antigene direkt bekämpfen, indem sie diese phagozytieren oder proteolytische Substanzen wie Sauerstoff- oder Stickstoffradikale, kationische Peptide und Enzyme sezernieren. Die prozessierten Antigene werden über MHC-II-Komplexe (major histocompatibility complex oder Haupthistokompatibilitätskomplex Klasse II) und CD4-Helferzellen präsentiert. Unter der Einwirkung bakterieller Toxine sind Makrophagen zur Synthese einer Vielzahl von Interleukinen fähig. Es werden proinflammatorische Interleukine wie IL-1 α , IL-1 β , IL-6, TNF- α , TNF- β und PGE₂ in derart großer Menge freigesetzt, dass Makrophagen im Verlauf der parodontalen Entzündung die Hauptquelle proinflammatorischer Zytokine darstellen. Mit der Antigenpräsentation an CD4-Zellen (T-Lymphozyten, B-Lymphozyten und Makrophagen) und der Ausschüttung von Zytokinen setzen Makrophagen die spezifische Immunreaktion in Gang und steuern sie zugleich. Neben Makrophagen stehen in diesem Stadium der Entzündung auch dendritische Zellen zur Verfügung, die ebenfalls zu Phagozytose und Präsentation bakterieller Antigene gegenüber Lymphozyten fähig sind (Ford, Gamonal et al. 2010). Ihre Fähigkeit, naive Lymphozyten zu aktivieren, ist dabei weit höher als die der Makrophagen. Die Wirkung von Makrophagen und dendritischen Zellen leitet die massive Präsenz von Lymphozyten ein, der Anteil der Lymphozyten am entzündlichen Infiltrat nimmt somit immer weiter zu. Der histologische Nachweis eines massiven perivaskulären Lymphozyten-/Makrophageninfiltrats kennzeichnet die sogenannte etablierte Läsion. Große Mengen eingewanderter Entzündungszellen und Blutplasma bewirken im Bereich parodontaler Strukturen eine massive Raumforderung. Gemeinsam mit den bakteriellen Toxinen und einigen Bestandteilen des Immunsystems tragen sie dazu bei, dass die physiologischen Bestandteile des gesunden Parodontalgewebes verdrängt werden. Die so einsetzende Zerstörung parodontaler Strukturen wird zusätzlich durch die zunehmende Ausschüttung proinflammatorischer Zytokine amplifiziert. Diese Botenstoffe bewirken, dass neben Makrophagen nun auch neutrophile Granulozyten und Fibroblasten des Parodontalgewebes Matrixmetalloproteinasen freisetzen

(Reynolds et Meikle 1997). Diese proteolytischen Enzyme führen zu einem massiven Abbau kollagener Strukturen und extrazellulärer Bindegewebsmatrix im parodontalen Gewebe. Auch die von Makrophagen sezernierten Peptidasen tragen im wesentlichen Umfang zur Zerstörung des Parodonts bei. Irreversible Schäden sind die Folge, die Entstehung von Gingivaltaschen beginnt. Durch Phagozytose beseitigen Makrophagen apoptotische Granulozyten und andere zugrunde gegangene Zellen. Doch Makrophagen spielen auch bei Heilungsprozessen eine wichtige Rolle, indem sie die Angiogenese und die Bildung von Granulationsgewebe fördern. Dieses Stadium der Entzündung markiert die Übergangsphase, die zum Zustand einer manifesten Parodontitis führt. Das perivaskuläre Lymphozyten-/Makrophageninfiltrat wird zahlenmäßig von T-Lymphozyten dominiert. Das Saumepithel wird nun in Folge der zahlreichen mikroskopischen und makroskopischen Veränderungen als Taschenepithel bezeichnet.

Nach Antigenprozessierung und Durchwandern von Lymphgefäßen gelangen antigenpräsentierende Zellen wie Makrophagen und dendritische Zellen in die Lymphknoten. In der T-Zellzone der Lymphfollikel treten die antigenpräsentierenden Zellen in Kontakt mit naiven CD4-Zellen, also mit T-Lymphozyten, B-Lymphozyten und Makrophagen, die CD4-Rezeptoren (cluster of differentiation 4, Oberflächenantigen 4, CD4-Rezeptor) exprimieren. Dies führt zur Aktivierung der T-Lymphozyten sowie zu ihrer Differenzierung und klonalen Aufteilung in CD4⁺CD8⁻-T-Lymphozyten (T-Helferzellen), CD8⁺CD4⁻-T-Lymphozyten (zytotoxische T-Zellen) und CD4⁺CD25⁺-T-Lymphozyten (regulatorische T-Zellen oder T_{reg}). T-Helferzellen, sowohl CD4⁺- als auch CD8⁺-T-Lymphozyten, können je nach sezerniertem Zytokinmuster und Funktion in folgende Subpopulation unterteilt werden: Th1-, Th2- und Th17-Zellen. Diese drei Subpopulationen bilden mit den regulatorischen T-Zellen gemeinsam eine Gruppe von T-Lymphozyten, denen eine besondere Bedeutung im Verlauf einer Parodontitis zugesprochen wird. Th1-Zellen, auch als Typ-1-Lymphozyten oder Typ-1-T-Helferzellen bezeichnet, sezernieren die Zytokine IL-2, Gamma-Interferon (IFN- γ) und TNF- α (Zimmer, Pollard et al. 1996) und beeinflussen damit die zelluläre Immunantwort. Außerdem fördern sie die Phagozytoseleistung der Makrophagen (Mosmann, Sad et al. 1996). Th2-Zellen hingegen, auch als Typ-2-Lymphozyten oder

Typ-2-T-Helferzellen bezeichnet, setzen die Interleukine IL-4, IL-5, IL-6, IL-9, IL-10 und IL-13 frei (Abbas, Murphy et al. 1996; Zimmer, Pollard et al. 1996). Diese Subpopulation vermittelt die Differenzierung der B-Lymphozyten zu Plasmazellen und nimmt damit eine wichtige Position in der humoralen Immunantwort ein. Die Rolle der Th17-Subpopulation im Rahmen der Parodontitis ist zwar zweifelsfrei belegt (Gaffen & Hajishengallis 2008), ihre Bedeutung jedoch noch nicht abschließend geklärt. Diese T-Helferzellen sezernieren IL-17, ein proinflammatorisches Interleukin, das offenbar ebenfalls den Abbau parodontaler Strukturen fördert (Gaffen & Hajishengallis 2008). Für regulatorische T-Zellen (T_{reg} , $CD4^+CD25^+$) hingegen konnte im Tierversuch eine antiinflammatorische Wirkung nachgewiesen werden (Garlet, Cardoso et al. 2010). Regulatorische T-Zellen (T_{reg} , $CD4^+CD25^+$) sezernieren die immunsuppressiven Zytokine TGF- β (transforming growth factor beta) und IL-10. Während den Th1-, Th2- und Th17-Zellen aufgrund der freigesetzten Zytokine eine proinflammatorische, knochenresorptionsfördernde und katabole Wirkung zugesprochen wird, rechnet man den regulatorischen T-Zellen (T_{reg} , $CD4^+CD25^+$) eine antiinflammatorische und protektive Wirkung zu (Garlet, Cardoso 2010). Das Verhältnis Th1-, Th2- und Th17-Zellen zu T_{reg} , auch als Th1-Th2-Paradigma respektive Th1/Th2/Th17-Paradigma bezeichnet, wird als entscheidend für den Verlauf einer Parodontitis und das Ausmaß der dabei auftretenden Destruktion betrachtet (Gemmell, Yamazaki et al. 2002; Gaffen et Hajishengallis 2008; Ohlrich, Cullinan et al. 2009). In diesem Zusammenhang scheint das IL-6 bei der Regulation des Verhältnisses zwischen IL-17 und T_{reg} eine herausragende Stellung einzunehmen (Kimura et Kishimoto 2010; Samson, Audia et al. 2012). Welche Faktoren Einfluss auf die Differenzierung der T-Lymphozyten nehmen, das quantitative Verhältnis der Subpopulationen zueinander bestimmen und somit einen entscheidenden Einfluss auf den Verlauf einer Parodontitis nehmen, ist derzeit unklar. Neben der Freisetzung von Chemokinen kommt den T-Helferzellen auch die Aufgabe zu, B-Lymphozyten zu aktivieren.

Persistieren Infektion und Entzündung, so verändert sich das entzündliche Infiltrat hinsichtlich seiner Zusammensetzung. In das perivaskuläre Lymphozyten-Makrophagen-Infiltrat, das die etablierte Läsion kennzeichnet, wandern infolge der

beschriebenen Mechanismen zunehmend T-, schließlich auch B-Lymphozyten ein. Das von T-Zellen freigesetzte IL-4 sowie die Aktivität dendritischer Zellen und die Sezernierung von TGF-1 β durch Fibroblasten regen die Proliferation und Differenzierung von B-Lymphozyten an. Sie besitzen die Fähigkeit, membrangebundene, spezifische Antikörper (Immunglobuline) gegen parodontopathogene Bakterien und ihre Produkte zu exprimieren. Dieser Vorgang erfolgt nach der Aktivierung der B-Lymphozyten durch Bindung an Antigene und gleichzeitige Costimulation durch T-Helferzellen. Daraufhin wandern aktivierte B-Zellen in die Keimzentren der Lymphknoten oder der Milz, um dort zu antikörpersezernierenden Plasmazellen zu proliferieren. Neben spezifisch wirkenden Antikörpern sezernieren Plasmazellen IL-1, das im Verlauf der entzündlich bedingten Destruktionsvorgänge von zentraler Bedeutung ist. Mit Zunahme der Taschentiefe verbessern sich die Lebensbedingungen anaerober Keime drastisch und die Menge bakterieller Toxine nimmt dadurch zu. Der bereits massive Abbau der extrazellulären Bindegewebsmatrix amplifiziert sich, es folgt eine vermehrte Resorption des Alveolarknochens. Dieses histologische Stadium, als fortgeschrittene Läsion bezeichnet, ist durch die Anwesenheit ausgeprägter parodontaler Taschen und durch die Abnahme neutrophiler Granulozyten und Makrophagen am entzündlichen Infiltrat gekennzeichnet. Das Infiltrat wird nun von Plasmazellen dominiert (Berglundh et Donati 2005). Histologisch und immunologisch betrachtet vollzieht sich der Übergang von der Gingivitis zur Parodontitis fließend. Könnte die etablierte Läsion noch nicht eindeutig der Parodontitis zugerechnet werden, so ist der Übergang zur Parodontitis bei der fortgeschrittenen Läsion mit Gewissheit vollzogen. Spätestens bei der fortgeschrittenen Läsion manifestieren sich massive, irreversible Schäden am Parodontalgewebe auch klinisch. Es fällt auf, dass die manifeste Form der Parodontitis mit dem Auftreten von Lymphozyten und Plasmazellen korreliert.

Zu den endogenen Substanzen, die katabole Prozesse fördern, zählen IL-1, IL-6, IL-17, TNF- α , Prostaglandin E₂ (PGE-2), Matrixmetalloproteinasen, RANK (receptor activator of NF- κ B) und RANKL (receptor activator of NF- κ B ligand). Synthese und Freisetzung von IL-1, Matrixmetalloproteinasen, TNF- α und PGE-2 stehen in direkter

Beziehung zu Ausmaß und Schweregrad des Entzündungsgeschehens der Parodontitis (Shapira, Warbington et al. 1994; Salvi, Brown et al. 1998).

1.3.1 Interleukin-4 (IL-4)

Interleukin-4 (IL-4) ist ein Interleukin, dem allgemein antiinflammatorische Eigenschaften zugeschrieben werden. Durch seine Funktionen ist dieses Zytokin für den Erhalt des Gleichgewichtszustands des Immunsystems von großer Bedeutung. IL-4 ist ein Glykoprotein, das vorwiegend von Th2-Zellen, in geringerem Umfang auch von Th1-Zellen und Mastzellen, produziert und freigesetzt wird. Es reduziert sowohl die Produktion von Th1-Zellen selbst als auch die von Makrophagen. Des Weiteren hemmt IL-4 die Freisetzung von IFN- γ . Im Verlauf einer Parodontitis interagiert IL-4 mit T-Zellen, B-Zellen, Monozyten, Makrophagen und Fibroblasten. Die entzündungshemmenden Eigenschaften bestehen darin, dass IL-4 die Funktion von Monozyten und Makrophagen reguliert, indem es deren Freisetzung von Substanzen mit gewebeabbauenden Eigenschaften wie IL-1 β , TNF- α (Levings et Schrader 1999) und PGE-2 hemmt. Dadurch kommt es zu einer verringerten Freisetzung von IL-1 β , TNF- α , PGE-2, Matrixmetalloproteinasen und Kollagenasen (Hart 1989). Der dabei zugrunde liegende Mechanismus besteht in der Fähigkeit des IL-4, die Expression der CD-14-Oberflächenrezeptoren auf der Zelloberfläche von Makrophagen und anderen Zellen in erheblichem Umfang zu reduzieren. Eine reduzierte Anzahl an CD-14-Oberflächenrezeptoren an Makrophagen hat eine geringere Anzahl an Lipopolysacchariden, die an der Oberfläche eines Makrophagen binden, und somit eine verringerte Ausschüttung von IL-1 β , TNF- α und PGE-2 zur Folge. Demnach kommt es zu einer verringerten Ausschüttung an Zytokinen mit kataboler Wirkung auf die parodontalen Gewebe (Lauener, Goyert et al. 1990). Durch die verringerte Expression von CD-14-Oberflächenrezeptoren wird auch die Aktivierbarkeit von Monozyten und Makrophagen herabgesetzt und damit die Abwehrfähigkeit dieser Zellen insgesamt.

Auch die IL-17-induzierte Expression der Matrixmetalloproteinase-3 in Gingivafibroblasten wird durch die Einwirkung von IL-4 unterdrückt (Jenkins, Javadi et

al. 2004). Bei Monozyten und Makrophagen, die durch Lipopolysaccharide bzw. IL-1 stimuliert wurden, kann IL-4 die Apoptose auslösen (Mangan, Robertson et al. 1992). Dadurch wird die Zahl der Makrophagen reduziert, somit das entzündliche Infiltrat verringert und die Freisetzung entzündungsfördernder Substanzen herabgesetzt (Mangan, Robertson et al. 1992). Auch durch die Hemmung der Synthese der Interleukine IL-6 (Gibbons, Martinez et al. 1990), IL-8 (Standiford, Strieter et al. 1990) und IL-12 (Levings et Schrader 1999) besitzt IL-4 eine antiinflammatorische Wirkung und erfüllt somit die Aufgabe, eine überschießende Entzündungsreaktion zu verhindern.

Neben der Fähigkeit, eine überschießende Immunreaktion zu dämpfen, besitzt IL-4 jedoch auch eine geringere Anzahl proinflammatorischer Eigenschaften. Während bei aktivierten B-Zellen unter Einfluss von IL-4 eine höhere Syntheserate von Antikörpern induziert wird, fördert IL-4 bei ruhenden B-Zellen eine vermehrte Expression von MHC-Klasse-II-Proteinen. Zudem begünstigt IL-4 die Proliferation und Differenzierung von B-Zellen sowie deren Reifung (Fujihashi, Kono et al. 1993). Des Weiteren führt IL-4 zu einem Immunglobulin-Klassenwechsel hin zu IgE und IgG4, sodass IL-4 auch eine bedeutende Rolle bei allergischen Reaktionen zugesprochen wird (Finkelman, Katona et al. 1988; Del Prete, Maggi et al. 1988).

1.3.2 Interleukin 8 (IL-8)

Interleukin-8 (IL-8) ist ein allgemein als proinflammatorisches Interleukin bezeichneter Entzündungsmediator der angeborenen Immunantwort. Es wird mit entzündlichen Prozessen assoziiert, unter anderem auch mit Parodontitiden (Huang, Haake et al. 1998; Uchida, Shiba et al. 2001; Sfakianakis, Barr et al. 2001). IL-8 wird als Reaktion auf diverse proinflammatorische Reize freigesetzt und bewirkt die chemotaktische Anlockung sowie Aktivierung neutrophiler Granulozyten. Je nach Isoform besteht IL-8 aus 69 bis 79 Aminosäuren und wird vorwiegend von aktivierten Monozyten, Makrophagen und neutrophilen Granulozyten sowie von Endothelzellen, Epithelzellen und Fibroblasten synthetisiert. IL-8 kann von allen Zellen der angeborenen Immunantwort synthetisiert werden, die toll-ähnliche Rezeptoren (TLR – toll-like

receptors) exprimieren. Werden solche Zellen von bakteriellen Noxen wie beispielsweise Lipopolysacchariden stimuliert, so setzen sie IL-8-Moleküle frei. Auch die Anwesenheit von IL-1, IL-3, IL-6, TNF- α , IFN- γ und Makrophagen-Granulozyten-CSF (MG-CSF) induziert die Synthese von IL-8. Ebenso fördert auch oxidativer Stress die Freisetzung von IL-8 (DeForge, Preston et al. 1993; Remick, Villarete et al. 1996; Verhasselt, Goldman et al. 1998; Roebuck 1999; Vlahopoulos, Boldogh et al. 1999; Ito, Hanazawa et al. 2004; Ivison, Wang et al. 2010). Neben entzündlich bedingten Faktoren können auch Ischämie und Trauma zu einer erhöhten IL-8-Sekretion führen. Die Anwesenheit der antiinflammatorischen Zytokine IL-4 und IL-10 hingegen hemmt die Biosynthese von IL-8 (Standiford, Strieter et al. 1990; Wang, Wu et al. 1994; Méndez-Samperio, García et al. 2002; Tabary, Muselet 2003; Tryzmel, Miskolci et al. 2003; Yilma, Singh et al. 2012). Die größte Bedeutung hat dieses Interleukin als Entzündungsmediator bei der Rekrutierung und Chemotaxis der Leukozyten, vor allem neutrophiler Granulozyten. Als Lockstoff für Leukozyten, insbesondere für neutrophile Granulozyten, wirkt IL-8 in einem solchen Ausmaß chemotaktisch auf diese Zellen des Immunsystems, dass es als wichtigster Faktor für die Akkumulation neutrophiler Granulozyten im entzündeten Gewebe zu betrachten ist (Baggiolini et Clark-Lewis 1992). IL-8 leistet somit einen wesentlichen Beitrag beim Aufbau des entzündlichen Infiltrats. Nicht nur neutrophile Granulozyten, sondern auch Endothelzellen, Mastzellen, Makrophagen und Keratinozyten sind Zielzellen dieses Interleukins. Als weiteres wichtiges Merkmal dieses Interleukins ist seine besondere Wirkung auf Endothelzellen zu verzeichnen. IL-8 hat eine stark positive Wirkung auf die Angiogenese, indem es die Migration von Endothelzellen in die Bindegewebsmatrix und deren Proliferation fördert. Dies fördert die Neubildung kapillarer Strukturen aktiv. Des Weiteren hemmt IL-8 die Apoptose der Endothelzellen. Endothelzellen selbst können IL-8 jedoch nicht nur synthetisieren und sezernieren, sie speichern es auch in den Weibel-Pallade-Körperchen, um es bei Bedarf rasch in adäquaten Mengen freizusetzen (Wolff, Burns et al. 1998). Nach der Nomenklatur der International Union of Immunological Societies wird Interleukin-8 als CXCL8 (CXC-motif-chemokine 8) bezeichnet, die Kurzbezeichnung IL-8 findet dennoch weiterhin Anwendung (Bacon, Baggiolini et al. 2002).

1.3.3 Interleukin-10 (IL-10)

Interleukin-10 (IL-10) ist ein antiinflammatorisches Zytokin, das von aktivierten T-Lymphozyten, Monozyten und B-Lymphozyten synthetisiert und sezerniert wird. In älteren Publikationen wird IL-10 auch als cytokine synthesis inhibitory factor bezeichnet, womit seine Funktion treffend umschrieben wird. IL-10 ist ein Schlüsselinhibitor des Entzündungsgeschehens, indem es die Funktion lipopolysaccharidaktivierter Makrophagen einschränkt (O'Farrell, Liu et al. 1998). So hemmt es Makrophagen bei Synthese und Sezernierung proinflammatorischer Substanzen wie beispielsweise IL-1 β , IL-6, Makrophagen-Granulozyten-CSF (MG-CSF), TNF- α , IL-8 und Stickstoffmonoxid (Moore, O'Gara et al. 1993). IL-10 ist damit ein bedeutender Faktor bei der Regulation der Immunantwort, der einer überschießenden Immunantwort und somit Sepsis und Selbstzerstörung durch das eigene Immunsystem entgegenwirkt. Dabei erfolgt die Hemmung der Makrophagenaktivierung und -proliferation durch IL-10 über unterschiedliche Mechanismen und Signalwege (O'Farrell, Liu et al. 1998). So gelingt es IL-10 beispielsweise über die Inhibierung der CD-28-Signalgebung, die Synthese der Interleukine IL-1, IL-2, IL-6 und TNF- α zu drosseln. Zudem stimuliert IL-10 die Biosynthese des IL-1ra, eines IL-1-Antagonisten. Hinsichtlich seiner Wirkung auf T-Helferzellen verhält sich IL-10 komplementär zur Wirkung des IL-4 auf diesen Zelltyp: Während IL-4 auf Th2 supprimierend wirkt, entfaltet IL-10 seine hemmende Wirkung gegenüber den Subpopulationen Th1 und TH17. Wie IL-4 ist auch IL-10 ein antiinflammatorisches Zytokin, jedoch vermag IL-10 als starker Inhibitor proinflammatorischer Zytokine eine weitaus größere Wirkung zu entfalten (Sagawa, Mochizuki et al. 1996). Die dabei zugrunde liegenden Mechanismen unterscheiden sich bei beiden Interleukinen wesentlich: Während IL-10 beispielsweise die Synthese des IL-1 auf der Transkriptionsebene stört (Wang, Wu et al. 1995), beeinträchtigt IL-4 die Expression der entsprechenden Gene, indem es die Stabilität der Messenger-RNA (mRNA) reduziert (Donnelly, Fenton et al. 1991). Durch seine Eigenschaft, den Transkriptionsfaktor NF- κ B (nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells) zu blockieren, hat IL-10 auch auf Monozyten eine einschränkende Wirkung, indem es damit die Reifung der Monozyten zu Makrophagen, vor allem zu

dendritischen Zellen, hemmt. Des Weiteren verhindert das IL-10 in Monozyten die Aktivierung der Cyclooxygenase-2 durch Lipopolysaccharide (Niiri, Otsuka et al. 1995). Gehemmt wird die Synthese von IL-10 durch Monozyten, durch IL-4, IL-12 und IL-10 selbst. Dauerhafte Störungen der IL-10-Produktion bewirken einen Mangel dieses Interleukins und sind häufig mit chronisch entzündlichen Erkrankungen der Magen-Darm-Schleimhaut wie Morbus Crohn und Colitis ulcerosa vergesellschaftet (Kucharzik, Stoll et al. 1995; Akagi, Hiyama et al. 2000; Schmit, Carol et al. 2002).

1.3.4 Interleukin-12 (IL-12)

Interleukin-12 (IL-12) wird zur Gruppe der proinflammatorischen Enzyme gerechnet und besitzt eine annähernd antagonistische Wirkung zu IL-10 und IL-4. Es wird im Wesentlichen von aktivierten dendritischen Zellen, Monozyten und Makrophagen synthetisiert und sezerniert. Auch B-lymphoblastoide Zellen können dieses Zytokin produzieren, ein Umstand, der die Bedeutung dieses Interleukins im Zusammenhang mit Tumoren verdeutlicht. Die wichtigste Funktion dieses Interleukins besteht darin, Th1-Zellen zur IFN- γ -Produktion anzuregen und im Verlauf einer Immunabwehr den Übergang von der angeborenen Immunantwort zur adaptiven Immunantwort zu regulieren (Trinchieri 2003). Die Stimulierung der Th1-Zellen vermittelt IL-12 die zelluläre Immunantwort: Im Zusammenspiel mit Interferon- γ induziert die Anwesenheit von IL-12 die Differenzierung naiver T-Zellen zu Th0-Zellen, die ihrerseits eine Differenzierung zu Th1- oder Th2-Zellen durchlaufen (Gemmell et Seymour 2004). Des Weiteren stimuliert IL-12 natürliche Killerzellen zur vermehrten Synthese von IFN- γ und TNF- α (Zhu, Zhao et al. 2012). Der proinflammatorische Charakter des IL-12 zeigt sich auch an seiner Eigenschaft, die Ausschüttung der bedeutenden antiinflammatorischen Zytokine IL-4 und IL-10 zu hemmen (Marshall, Secrist et al. 1995). Ebenfalls beachtenswert erscheint die Tatsache, dass IL-12 der Angiogenese entgegenwirkt (Voest, Kenyon et al. 1995; Sgadari, Angiolillo et al. 1996; Bielawska-Pohl, Blesson et al. 2010; Cocco, Ferretti et al. 2011). Verschiedene Mikroorganismen besitzen IL-12 hemmende Faktoren. Dementsprechend belegen neuere Forschungsergebnisse, dass zwischen IL-12 und *Porphyromonas gingivalis* eine

besondere Wechselwirkung besteht: Durch Manipulation einzelner Bestandteile des Complementsystems gelingt es diesem Keim, die Expression von IL-12 zu unterdrücken (Liang, Krauss et al. 2011). Durch diese selektive Schwächung des IL-12 hat es den Anschein, dass es dadurch bei Parodontitis zu einer vermehrten Produktion von IL-1 β und IL-6 sowie einer Differenzierung von T-Helferzellen zu Th17-Zellen kommt, Faktoren, die einen Knochenabbau begünstigen (Moutsopoulos, Kling et al. 2012).

1.4 Genetische Prädisposition

Der vom Wirtsorganismus induzierte Abbauprozess hat eine physiologische Ursache – Abwehrzellen und Substanzen des Immunsystems benötigen Raum, der nur durch den Abbau parodontaler Strukturen geschaffen werden kann. Das Ausmaß der Neigung zu einer überschießenden Immunantwort und damit zu verstärktem Abbau parodontaler Strukturen ist jedoch in großem Umfang von der individuellen genetischen Prädisposition geprägt. Es gilt als erwiesen, dass Auftreten und Schwere der Parodontitis mit genetischen Veränderungen der Interleukinexpression assoziiert sind (Havemose-Poulsen, Sørensen et al. 2007). Die für Kodierung zuständigen Gene können in mehreren unterschiedlichen Ausprägungsformen vorliegen. Eine solche Veränderung entsteht durch Mutation. Ist eine derartige Veränderung bei mehr als 1 % der Population anzutreffen, so bezeichnet man sie als einen genetischen Polymorphismus und nicht mehr als Mutation. Ein genetischer Polymorphismus des Erbguts verändert sowohl die Menge eines zu synthetisierenden Proteins als auch seine Struktur. Somit bewirkt die polymorphe Expression die Synthese andersartiger, unterschiedlicher, nebeneinander parallel existierender Formen eines Proteins. Sie werden als Polymorphismen dieses Proteins bezeichnet. Diese Isoformen können nicht nur ihre Morphologie betreffen, sondern auch hinsichtlich ihrer Funktion Unterschiede zur Normalform aufweisen und somit Stoffwechselvorgänge verändern. Es existieren sowohl funktionelle als auch nicht funktionelle Polymorphismen. Beim selben Individuum können derartige Polymorphismen in unterschiedlichen Konzentrationen neben der unveränderten Form existieren. Werden bestimmte Polymorphismen im Zusammenhang mit einer bestimmten Störung beobachtet, so besteht ein Hinweis

darauf, dass diese Variation am Auftreten dieser Erkrankung ursächlich beteiligt sein kann (Kinane et Hart 2003). Bei zahlreichen Erkrankungen kann beobachtet werden, dass die entsprechend Erkrankten bestimmte Allelfrequenzen häufiger aufweisen als Gesunde (Kinane, Shiba et al. 2005). Man bezeichnet derartige Gene als krankheitsassoziierte Polymorphismen und das Auftreten der entsprechenden Erkrankung als genetisch prädisponiert. Die Existenz derartiger Polymorphismen ist zwar weit verbreitet, führt jedoch nicht zwangsweise zu einer Erkrankung. Je nach Konzentration der einzelnen Polymorphismen eines bestimmten Proteins kann es zu unterschiedlichen Ausprägungen einer Erkrankung führen. Zudem können exogene Faktoren wie z. B. Rauchen, bakterielle Besiedlung etc. die Wirkung derartiger krankheitsassoziiierter Polymorphismen verstärken oder abschwächen und damit zu unterschiedlichen Ausprägungsformen der Erkrankung führen. Man spricht bei derartigen Veränderungen, die von äußeren Faktoren herbeigeführt werden, von einer Modulation durch exogene Faktoren. Es besteht somit nicht zwangsweise eine direkte Ursache-Wirkung-Korrelation zwischen einem polymorphen Gen (Allel) und dem Auftreten der Erkrankung. Ob ein Polymorphismus zu einem Krankheitsphänotyp führt, ist somit meist von zahlreichen und sehr unterschiedlichen endogenen sowie exogenen Faktoren abhängig. Krankheitsassoziierte Polymorphismen werden besonders mit entzündlichen Erkrankungen wie z. B. Morbus Crohn, Colitis ulcerosa, Diabetes, Morbus Alzheimer sowie der chronischen und aggressiven Form der Parodontitis in Verbindung gebracht.

Die Untersuchung phänotypischer Ausprägung der aggressiven Parodontitis bei Zwillingen führte zur Unterscheidung jener Variationen, die genetischen Faktoren geschuldet sind, von denen, die durch exogene Faktoren verursacht werden. Michalowicz et al. konnten in einer derartigen Studie an 110 Zwillingspaaren nachweisen, dass in Bezug auf Prävalenz und Schwere der Erkrankung interindividuelle Unterschiede bestehen, die eindeutig auf genetische Faktoren zurückzuführen sind (Michalowicz, Aepli et al. 1991). Diese Studie ergab, dass 38-82 % der Varianz in den klinischen Parametern Taschensondierungstiefe, Attachmentverlust und Plaquemenge auf genetische Faktoren zurückzuführen sind (Michalowicz, Aepli et al. 1991). Auch

weitere Hinweise führten zu der inzwischen weit verbreiteten Annahme, dass etwa 50 % der Parodontitisfälle ererbt sein könnten und somit nicht erworben sind (Michalowicz, Diehl et al. 2000). Es waren auch breit angelegte epidemiologische Studien wie beispielsweise die NHANES-III-Studie (NHANES-III) und die sogenannte Sri-Lanka-Studie (Løe, Anerud et al. 1986), die zu dieser Annahme beitrugen, indem sie den Verdacht auf eine genetische Komponente bestärkten. Sie erlaubten die Beobachtung, dass trotz der weiten Verbreitung von Risikofaktoren wie mangelhafter Mundhygiene, Rauchen oder fehlender zahnmedizinischer Versorgung nur eine verhältnismäßig geringe Anzahl von empfänglichen Individuen an einer aggressiven Form der Parodontitis erkrankte (NHANES-III; Løe, Anerud et al. 1986).

Bei Parodontitiden sind jene genetischen Polymorphismen von besonderem Interesse, die zur Veränderung immunologischer Abläufe führen. Es gilt als erwiesen, dass die Ausbildung von Polymorphismen eine Verstärkung der proinflammatorischen Wirkung bestimmter Zytokine zur Folge hat (Kornman, Crane et al. 1997; McDevitt, Wang et al. 2000). Nicht nur Zytokine, auch weitere immunrelevante Proteine wie beispielsweise IgG-Rezeptoren sind davon betroffen und können somit parodontitisassoziierte Polymorphismen aufweisen. Eine derartige Verstärkung der proinflammatorischen Wirkung immunologischer Komponenten verschiebt das im physiologischen Zustand existierende Gleichgewicht anaboler und kataboler Prozesse zugunsten kataboler Prozesse. Am besten erforscht ist das IL-1. Die weit überwiegende Mehrheit der Autoren konnte zwischen Polymorphismen der IL-1-Gene und dem Auftreten einer Parodontitis einen eindeutigen Zusammenhang nachweisen (Kornman, Crane et al. 1997; McDevitt, Wang et al. 2000; Cullinan, Westerman et al. 2001; Laine, Farré et al. 2001; Li, Zhao et al. 2004; López, Jara et al. 2005). Die jeweilige ethnische Zusammensetzung des Patientenkollektivs scheint dabei einen sehr bedeutenden Einfluss auf das Ergebnis der Studie zu haben (Nares 2003). Es sind verschiedene Variationen der Gene mit unterschiedlicher IL-1-Expression bekannt, sodass etwa 30 Prozent der kaukasischen Individuen diesen krankheitsassoziierten Genotyp tragen. Dieser Populationsanteil besitzt dadurch ein rund dreifach höheres Risiko, an einer Parodontitis zu erkranken, als andere. Socransky et al. stellten hinsichtlich der

Polymorphismen IL-1 α +4845 und IL-1 β +3954 fest, dass bei den genotyppositiven Individuen höhere Mengen an Bakterien des roten und des orangefarbenen Komplexes zu finden waren (Socransky, Haffajee et al. 2000). Ursächlich dafür ist nicht eine Verschiebung der Konzentrationsanteile dieser Keime zu Lasten der übrigen Bakterienarten, sondern eine absolute Erhöhung der Anzahl der Bakterien des roten und des orangefarbenen Komplexes (Socransky, Haffajee et al. 2000). Sowohl der IL-1 β +3954-Polymorphismus als auch Keime des roten Komplexes modulieren unabhängig voneinander den IL-1-Spiegel im parodontalen Gewebe (Ferreira, Trombone et al. 2008). Die Präsenz beider Faktoren korreliert mit dem Schweregrad der Parodontitis, beide Faktoren sind als Risikofaktor für das Auftreten dieser Erkrankung zu betrachten (Ferreira, Trombone et al. 2008). Ein weiterer exogener Faktor, der modulierend auf IL-1-Polymorphismen wirkt, ist das Rauchen. Bei Rauchern mit einem Interleukin-1 β -Polymorphismus können die Auswirkungen einer chronischen Parodontitis deutlich stärker ausfallen als bei Nichtrauchern, sodass beträchtlich größere Sondierungstiefen und Attachmentverluste als bei Nichtrauchern festgestellt werden (Mcguire & Nunn 1999). Das Vorliegen eines IL-1 β -positiven Genotyps führt jedoch nicht zwangsweise zur phänotypischen Ausprägung einer Parodontitis. Sofern die Erkrankung noch nicht ausgebrochen ist, hat das Vorliegen eines derartigen parodontitisassoziierten Polymorphismus lediglich die Bedeutung eines Risikofaktors.

Aus der Betrachtung der genetischen Prädisposition bei Parodontitiden kann nach derzeitigem Wissensstand lediglich gefolgert werden, dass Auftreten und Schwere der Parodontitis mit genetischen Veränderungen des Immunsystems eindeutig assoziiert sind. Art und Umfang der genetischen Komponente können bei der chronischen Parodontitis nicht beziffert werden, eine genetisch-hereditäre Komponente ist jedoch zweifellos existent.

1.5 Interaktion der Parodontitis mit anderen Erkrankungen

Die Ausbreitung der parodontalen Entzündung führt per continuitatem zum Befall benachbarter Strukturen. Regionäre Komplikationen können in Form von Abszessen,

Osteomyellitis oder Sinusitis maxillaris auftreten. Die hämatogene oder lymphogene Keimaussaat hingegen kann auch weiter entfernte Gewebe erreichen und zu großen Komplikationen führen. In seltenen Fällen, vor allem bei Individuen mit geschwächter Immunabwehr, sogar zu derartig schwerwiegenden Komplikationen wie Mediastinitis, Endokarditis (Mitchell et Gillespie 1964; Schack, Smith et al. 1984; Pierce, Bartholomew et al. 1984; van Winkelhoff et Slots 1999; Brouqui et Raoult 2001; Wang, Wang et al. 2010) oder Hirnabszessen (Rahamat-Langendoen, van Vonderen et al. 2011). Der Zusammenhang zwischen Parodontitis und anderen Erkrankungen gilt als erwiesen. Unabhängig von den vielfach bekannten Risikofaktoren wie Rauchen, Störung des Fettstoffwechsels, Bluthochdruck etc. (Beck et Offenbacher 2005) erhöht das Vorliegen einer Parodontitis das Risiko, an einer Herz-Kreislauf-Erkrankung (Janket, Baird et al. 2003; Meurmann, Sanz et al. 2004; Beck et Offenbacher 2005; Bahekar, Singh et al. 2007) wie Arteriosklerose (Janket, Baird et al. 2003; Meurmann, Sanz et al. 2004; Behle et Papapanou 2006; Humphrey, Fu et al. 2008; Kebschull, Demmer et al. 2010), Herzinfarkt (DeStefano, Anda et al. 1993; Mattila KJ, Valtonen et al. 1995; Joshipura, Rimm et al. 1996; Beck, Garcia et al. 1996; Morrison, Ellison et al. 1999; Arbes Jr, Slade et al. 1999; Rutger Persson, Ohlsson et al. 2003; Beck et Offenbacher 2005; Bahekar, Singh et al. 2007) oder Schlaganfall (Beck et Offenbacher 2005) zu erkranken. Parodontopathogene Keime konnten in atheromatösen Plaques nachgewiesen werden (Haraszthy, Zambon et al. 2000; Okuda, Ishihara et al. 2001; Ishihara, Nabuchi et al. 2004; Cavrini, Sambri et al. 2005; Kozarov, Dorn et al. 2005). Zudem weisen Patienten mit Herz-Kreislauf-Erkrankungen, die an Parodontitis erkrankt sind, eine deutlich erhöhte Mortalitätsrate im Vergleich zu parodontal Gesunden auf (DeStefano, Anda et al. 1993). Es konnte sich die Erkenntnis durchsetzen, dass die hämatogene Ausbreitung parodontopathogener Keime in weit stärkerem Ausmaß als bislang angenommen stattfindet: Bei parodontal erkrankten Individuen verursacht bereits das gewöhnliche Zähneputzen eine Bakteriämie (Lockhart PB, Brennan et al. 2008; Lucas, Gafan et al. 2008). Insbesondere bei Individuen, die an einer schweren Form der Parodontitis leiden, induziert selbst ein moderater Mastikationsvorgang eine ungehinderte hämatogene Ausbreitung bakterieller Toxine und Zytokine wie IL-1 β und IL-6 oder TNF- α (Geerts, Nys et al. 2002). Parodontaltherapeutische Maßnahmen

führen bei Parodontitispatienten zu einer Verbesserung von Blutdruck und Fettstoffwechsel (D’Aiuto, Parkar et al. 2006) sowie zu einer Verbesserung der Endothelfunktion (Tonetti, D’Aiuto et al. 2007; Tonetti 2009). In jüngerer Vergangenheit erhärtet sich der Verdacht, dass parodontopathogene Keime ihre schädigende Wirkung nicht auf das Parodont beschränken, sondern auch Gelenke schädigen können (Pischon, Röhner et al. 2009; de Pablo, Chapelle et al. 2009). Obgleich die zugrunde liegenden Mechanismen noch unklar sind, gilt eine signifikant positive Assoziation zwischen Parodontitis und Rheumatoider Arthritis als erwiesen (Mercado, Marshall et al. 2001; Lagervall, Jansson et al. 2003; Bartold, Marschall et al. 2005; Pischon, Pischon et al. 2008; de Pablo, Dietrich et al. 2008; Ortiz, Bissada et al. 2009; Detert, Pischon et al. 2010; Ziebolz, Pabel et al. 2011). Parodontaltherapeutische Maßnahmen führen auch hier signifikant zu einer Remission der Symptomatik der Rheumatoiden Arthritis (Ortiz, Bissada et al. 2009). Parodontitis stellt auch ein Risiko für Frühgeburtlichkeit und reduziertes Geburtsgewicht dar (Jeffcoat, Hauth et al. 2003; Offenbacher, Boggess et al. 2006; Offenbacher, Lin et al. 2006; Pretorius, Jagatt et al. 2007; Toygar, Seydaoglu et al. 2007; Gomes-Filho, Cruz et al. 2007; Müller, Ulm et al. 2008; Mobeen, Jehan et al. 2008; Polyzos, Polyzos et al. 2009; Nabet, Lelong et al. 2010; Jeffcoat, Parry et al. 2010; Rakoto-Alson, Tenenbaum et al. 2010; Baskarados, Geevarghese et al. 2011; George, Schamin et al. 2011) und – bei älteren Individuen – für schwere Atemwegserkrankungen. Eine weitere besonders bedeutende Erkrankung, die ein hohes Maß an Assoziation mit Parodontitis aufweist, ist Diabetes mellitus (Emrich, Schlossman et al. 1991; Grossi, Zambon et al. 1994; Tsai, Hayes et al. 2002; Khader, Daoud et al. 2006; Mattout, Bourgeois et al. 2006; Lalla, Cheng et al. 2007). Die bei Diabetikern gesteigerte Entzündungslage bewirkt, dass Plaqueakkumulation eine stärkere und raschere Immunantwort hervorruft als bei Nichtdiabetikern (Salvi, Kandyaki et al. 2005). Zunehmend verdichten sich die Hinweise darauf, dass das Vorliegen einer schweren Parodontitis bei Diabetikern mit einer verstärkten Insulinresistenz korreliert (Schulze, Schönauer et al. 2007; Benguigui, Bongard et al. 2010). Ebenso korreliert das Vorliegen einer schweren Parodontitis bei Diabetikern mit einer schlechten Blutzuckerkontrolle (Tervonen, Oliver et al. 1993; Taylor, Burt et al. 1996; Lalla, Cheng et al. 2007; Lim, Tay et al. 2007). Die Behandlung der Parodontitis

verbessert die glykämische Kontrolle (Rodrigues, Taba et al. 2003; Skaleric, Schara et al. 2004; Kiran, Arpak et al. 2005; Teeuw, Gerdes et al. 2010; Simpson, Needleman et al. 2010).

1.6 Epidemiologie der Parodontitis

Der Epidemiologie der Parodontitis kommt eine besondere Bedeutung zu, da das heutige Verständnis der Ätiologie und der Pathomechanismen dieser Erkrankung im Wesentlichen epidemiologischen Betrachtungen zu verdanken ist. Allgemeine Angaben zur Inzidenz der Parodontitis gestalten sich durch unterschiedliche Definitionsauffassungen und unterschiedliche Diagnostik der Parodontitis jedoch schwierig. Zusätzlich zu den Diskrepanzen bei Messmethoden und Definition der Parodontitis kann die Inzidenz der Parodontalerkrankungen selbst, je nach Auffassung, vollkommen unterschiedlich definiert werden. Zumeist wird die Inzidenz der Parodontalerkrankung als Neuerkrankung bislang gesunder Individuen definiert, also von Individuen, die zuvor keine Anzeichen einer Parodontitis aufwiesen. Im Gegensatz dazu kann die Inzidenz jedoch auch als ein Fortschreiten der Erkrankung, somit als Zunahme der Anzahl erkrankter Zähne in einem bestimmten Kollektiv während eines bestimmten Zeitraums definiert werden. In diesem Fall werden auch Individuen erfasst, die bereits erkrankt waren und bei denen im Betrachtungszeitraum neu erkrankte Zähne hinzugekommen sind. Schließlich kann die Inzidenz auch absolut als Zunahme des Attachmentverlusts in Bezug auf die untersuchten Zähne oder Quadranten betrachtet werden, also unabhängig von der Anzahl untersuchter Individuen. Aussagen einzelner Studien sind somit einer noch größeren Variationsbreite unterworfen, als dies bei der Prävalenz der Fall ist. Dennoch ist eine deskriptive Betrachtung der einzelnen Studien aufschlussreich, da sie Rückschlüsse auf die Ätiologie dieser Erkrankung erlaubt. Die bereits erwähnte „Sri-Lanka-Studie“ von Loe et al. erbrachte einen deutlichen Einblick in die Inzidenz der Parodontitis und führte zu einem radikalen Umdenken hinsichtlich der Ätiologie dieser Erkrankung (Loe, Anreud 1965). Auch weitere Studien zur Inzidenz dieser Erkrankung zeigten, dass Attachmentverlust lediglich bei einer eher geringen Anzahl empfänglicher Individuen bedrohliche Ausmaße annimmt (Beck et al. 1990;

Brown et al. 1994; Beck, Koch et al. 1997).

Studien innerhalb der US-amerikanischen Bevölkerung konnten eine besonders hohe Prävalenz dieser Erkrankung nachweisen. Wird die Erkrankung eines Individuums an Parodontitis als ein Attachmentverlust von mindestens 2 mm an mindestens einer Stelle definiert, so sind etwa 80 % aller erwachsenen US-Amerikaner erkrankt und ca. 90 % der untersuchten Individuen in der Altersklasse zwischen 55 und 64 Jahren (NHANES III 1997). Die National Health and Nutrition Examination Survey (NHANES III 1997), die als größte repräsentative Querschnittsstudie dieser Art in den USA gilt, ergab ferner, dass bei den 30- bis 90-Jährigen in 53 % der Fälle ein Attachmentverlust von 3 mm und mehr vorliegt und bei 64 % eine Sondierungstiefe von 3 mm und mehr festgestellt werden konnte. Insgesamt betrachtet konstatiert diese Studie das Vorliegen einer Parodontitis bei 35 % der bezahnten Bevölkerung im Alter zwischen 30 und 90 Jahren (Ablander, Brunelle et al. 1999). Untersucht wurden bei den teilnehmenden Personen lediglich zwei zufällig ausgewählte Quadranten je Individuum. Patienten mit weniger als 6 Zähnen wurden ausgeschlossen. Das Vorliegen eines Attachmentverlusts von 4 mm und mehr konnte innerhalb der US-amerikanischen Bevölkerung in der Altersklasse zwischen 18 und 64 Jahren hingegen nur bei lediglich 10 bis 15 % der Untersuchten nachgewiesen werden (Brown et Loe 1993). Auch hier der Hinweis, dass schwere Formen wesentlich seltener anzutreffen sind, während leichte Formen sehr weit verbreitet sind.

Eine neuere Studie, bei der eine Bevölkerungsgruppe von 853 Personen aus Südbrasilien im Alter zwischen 30 und 103 Lebensjahren untersucht wurde, ergab ebenfalls den Nachweis für eine besonders hohe Prävalenz der Parodontitis (Susin et al. 2004). Diese Studie erscheint von besonderem Interesse, da hierbei sämtliche Zähne jedes Individuums untersucht wurden und die Messung des Attachmentverlusts bei jedem Zahn an 6 Messpunkten erfolgte. Somit erscheint ein Unterschätzen der Prävalenz ausgeschlossen, was auch die hohen Werte für die Prävalenz erklären dürfte respektive Zweifel an den Daten anderer Studien erweckt, bei denen die Befunde an jedem Individuum nur partiell erhoben wurden. In dieser Studie konnte bei 79 % der Untersuchten ein Attachmentverlust von ≥ 5 mm nachgewiesen werden. Im Schnitt

waren 36 % der Zähne der betroffenen Individuen befallen. Besonders schwere Fälle von Parodontitis mit einem Attachmentverlust von ≥ 7 mm konnten in 52 % der Fälle nachgewiesen werden. Hier waren durchschnittlich 16 % der Zähne eines Individuums betroffen. Dass dieses Ergebnis einer hohen Prävalenz der Parodontitis innerhalb der brasilianischen Bevölkerung nicht auf sozioökonomische Faktoren zurückzuführen ist, beweisen die Ergebnisse einer weiteren Studie aus Frankreich. Diese Studie hatte zum Ziel, die Prävalenz der Parodontitiden innerhalb der französischen Bevölkerung sowie ihren Parodontalstatus zu erforschen. Untersucht wurden 2144 Erwachsene mit mehr als sechs Zähnen im Alter zwischen 35 und 64 Jahren. Bei allen Probanden wurden sämtliche Zähne untersucht. Bei 95 % der Untersuchten wurde ein Attachmentverlust diagnostiziert. Ein Attachmentverlust von ≥ 5 mm wurde bei 47 % der Untersuchten festgestellt (Bourgeois et al. 2007). Aus den Ergebnissen ihrer Untersuchung folgern Bourgeois et al., dass etwa 50 % der französischen Bevölkerung an einer schweren Form der Parodontitis erkrankt sind (Bourgeois et al. 2007).

Was den epidemiologischen Status der Parodontitis in Deutschland betrifft, so gibt die „Vierte Deutsche Mundgesundheitsstudie“ (DMS IV) aus dem Jahr 2005 einen Einblick in die Epidemiologie der Parodontitis in Deutschland. Sie erlaubt auch Einblicke in die epidemiologische Entwicklung der letzten Jahre, da es sich um eine Wiederholungsuntersuchung der acht Jahre zuvor durchgeführten DMS III handelt. Im Rahmen der DMS IV wurden 4.500 Personen aus allen sozialen Schichten und Altersgruppen untersucht. Dieser Studie zufolge ist die Parodontitis in Deutschland weit verbreitet. 52,7 % der erwachsenen Bevölkerung im Alter zwischen 35 und 44 Jahren sind von mittelschweren Formen der Parodontitis betroffen. Weitere 20,5 % dieser Altersklasse leiden sogar unter einer schweren Form dieser Erkrankung. Somit sind in Deutschland über 70 % der 35- bis 40-Jährigen von einer mittelschweren bis schweren Form der Parodontitis betroffen. In der Altersklasse zwischen 65 und 74 Jahren ist die Prävalenz der mittelschweren Form ähnlich hoch (48,0 %), die Prävalenz schwerer Formen jedoch signifikant höher (39,8 %), sodass nahezu 90 % der älteren Mitbürger von einer mittelschweren bis schweren Form der Parodontitis betroffen sind (Micheelis et Schiffner 2006). Der Vergleich mit den Ergebnissen der DMS III aus dem Jahr 1997

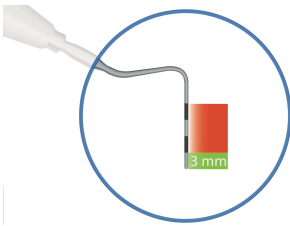
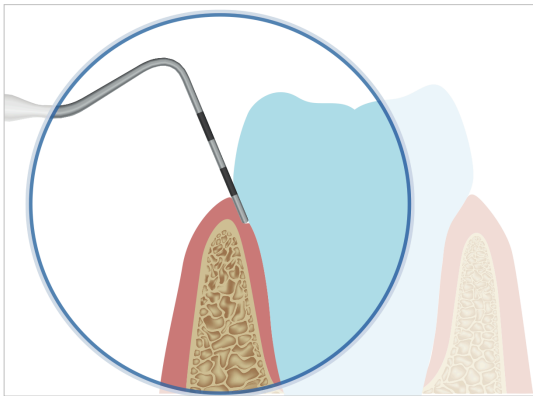
verdeutlicht einen drastischen Anstieg bei den schweren Formen der Parodontitis. So erhöhte sich der Anteil der an schweren Formen der Parodontitis erkrankten Senioren von 24,4 % (Micheelis et Reich 1999) auf 39,8 % (Micheelis et Schiffner 2006). In der Altersklasse zwischen 35 und 44 Jahren war bei den schweren Formen der Erkrankung ein Anstieg von 14,1 % (Micheelis et Reich 1999) auf 20,5 % (Micheelis et Schiffner 2006) zu vermerken (Micheelis et Schiffner 2006). Ein niedriger Bildungsstand und das Rauchen erweisen sich dieser Studie zufolge als besondere Risikofaktoren für eine schwere Form der Parodontitis (Micheelis et Schiffner 2006).

Je nach Studie variiert die Prävalenz der Parodontitis stark. Folgt man der Aussage der meisten Studien, so befindet sich die Prävalenz der Parodontitis weltweit jedoch jenseits der 50%-Marke. Die Prävalenz moderater Formen variiert je nach Studie innerhalb einer Bandbreite von etwa 35 bis 80 %. Ältere Individuen sind dabei stärker betroffen. Es gilt zu bedenken, dass Studien, bei denen nur ein Teil der Zähne untersucht wurde, zu einem Unterschätzen der Prävalenz führen. Daher erscheinen die Zahlen im oberen Bereich der genannten Bandbreite durchaus zutreffender. Folglich muss selbst bei vorsichtigen Schätzungen davon ausgegangen werden, dass mindestens die Hälfte der Weltbevölkerung an einer Parodontitis erkrankt ist. Während moderate bis leichte Formen weit verbreitet sind, leiden hingegen verhältnismäßig wenige Individuen an schweren Formen. Sowohl aus medizinischer als auch aus gesundheitsökonomischer Sicht kommt dieser Erkrankung folglich eine besonders große Bedeutung zu.

1.7 Diagnostik der Parodontitis

Die epidemiologisch und sozioökonomisch überragende Bedeutung der Parodontitis steht im Kontrast zur Simplizität der Diagnostik, mit der diese besonders weit verbreitete Erkrankung erfasst wird. Dabei stellen die Messung der Taschentiefe mittels Messsonde (Dar. 1 - 3) und die röntgenologische Beurteilung des Knochenabbaus die einzigen bislang allgemein anerkannten und verbreiteten Methoden dar. Zwischen dem gesunden und dem erkrankten Zustand des Parodonts besteht klinisch betrachtet ein nahezu fließender Übergang und der Idealzustand vollkommen gesunder Parodontien an

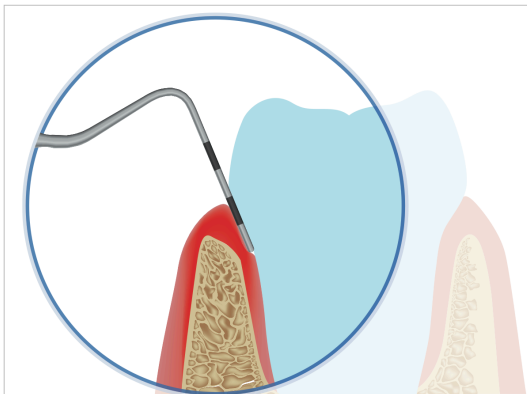
allen Zähnen eines Individuums ist bei Erwachsenen nur selten anzutreffen. Aus diesem Grund besteht Uneinigkeit darüber, ab welcher Taschensondierungstiefe das Vorliegen einer Parodontitis zu definieren ist. Diskrepanz besteht auch bei den Ansichten über die Art der Erfassung des Schweregrads. Zudem ist klinisch betrachtet die Abgrenzung von der Gingivitis unklar. Nach allgemein gültiger Auffassung ist eine Taschensondierungstiefe von mehr als 2 bis 3 mm als pathologisch zu betrachten. Eine weitere Methode ist die Erfassung der Blutung auf Sondierung (BOP – bleeding on probing). Blutet die marginale Gingiva bereits bei leichter Berührung, so wird dies allgemein hin als Anzeichen einer akuten Entzündung betrachtet. Aus der Messung der Taschensondierungstiefe und weiteren Faktoren wie Blutung bei Sondierung oder Plaqueakkumulation leitet sich eine Vielzahl unterschiedlicher Indices ab. Der Verlust parodontaler Strukturen führt in einigen Fällen zur Ausbildung von Gingivarezessionen. Diese relativieren den Wert der Taschensondierungstiefe (Dar. 3). Wird der Wert einer vorliegenden Gingivarezession nicht dem Zahlenwert der Taschensondierungstiefe dazugezählt, führt dies zu einer Verfälschung des Messwerts des Attachmentverlusts (falsch-negativ) (Dar. 3).



Darstellung 1

Sondierung eines gesunden Parodonts (G. Klein M.Sc.)

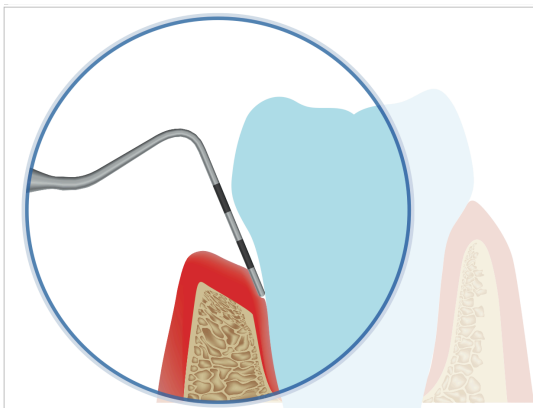
Eine Taschentiefe von 2 bis 3 mm wird als gesund klassifiziert, sofern radiologisch keine eindeutigen Hinweise auf Knochenabbau bestehen.



Darstellung 2

Sondierung einer tiefen Parodontaltasche (G. Klein M.Sc.)

Parodontale Schädigung mit Ausbildung einer tiefen Parodontaltasche.



Darstellung 3

Sondierung eines pathologisch veränderten Parodonts bei Vorliegen eines massiven Abbaus knöcherner Strukturen und einer Gingivarezession (G. Klein M.Sc.)

Eine ausgedehnte knöcherne Schädigung kann einen Messwert ergeben, der einer gesunden Parodontalsituation entspricht, selbst wenn der Prozess der parodontalen Destruktion nicht zum Stillstand gekommen ist. Gesetzliche Krankenkassen übernehmen die Kosten für eine Parodontaltherapie erst bei Vorliegen einer Taschentiefe von mehr als 3,5 mm, obwohl das

Ergebnis der Messung der Taschensondierungstiefe keine Aussage darüber zulässt, ob der schädigende Prozess sistiert oder weiter voranschreitet. Eine Situation wie in dieser Abbildung würde kassenrechtlich als „gesund“ ohne Behandlungsbedarf klassifiziert.

Im Extremfall kann ein Parodontium als gesund eingestuft werden, obwohl ein beträchtlicher Attachmentverlust vorliegt. Kommt es hingegen zu einer Schwellung der marginalen Gingiva bei intaktem Zustand knöcherner Strukturen, so bildet sich eine reversible Pseudotasche, die sich nach Remission der Schwellung spurlos zurückbildet. Eine derartige Schwellung führt zu einem falsch-positiven Messergebnis der Taschensondierungstiefe. Doch auch beim vorgeschädigten Parodont stellt sich die Frage, wie viel von der Tiefe der gemessenen Parodontaltasche auf die schwellungsbedingte Volumenzunahme der Gingiva zurückzuführen ist. Dementsprechend ist nach erfolgter Therapie durch den Rückgang von Entzündung und Schwellung regelmäßig eine Abnahme der Taschensondierungstiefe zu beobachten. Der Schaden in Form von Attachmentverlust bleibt jedoch existent. Die Messung des tatsächlich vorliegenden Schadens ist nun mittels Taschensondierungstiefe nicht mehr möglich (Dar. 3).

Sondierung der Taschentiefe und röntgenologische Beurteilung des parodontalen Knochenabbaus vermögen lediglich den bereits erfolgten Verlust parodontaler Strukturen zu dokumentieren. Die so erhobenen Daten erlauben nur den Blick in die Vergangenheit des entzündlichen Geschehens. Erkenntnisse über den aktuellen Zustand des Gewebes, ob eine akute Gefährdung durch Abbauprozesse vorliegt oder ob die Entzündung sistiert, sind mit diesen parodontologischen Standardverfahren nicht möglich. Auch als diagnostisches Frühwarnsystem sind diese Methoden völlig ungeeignet, da sie die Erkrankung erst dann erfassen, wenn ein irreversibler und deutlich messbarer Schaden bereits eingetreten ist.

Mikrobiologische Untersuchungen haben im Verlauf der letzten Dekade zunehmend an Bedeutung gewonnen, so dass sich bakteriologische PCR-Tests zur quantitativen Untersuchung von Bakterien des roten und orangefarbenen Komplexes im klinischen Alltag etabliert haben. Keimlast und Bakterienprofil im Sulkusfluid erkrankter Zähne entscheiden häufig über die Auswahl antibakterieller Mittel bei der Therapie der Parodontitis. Einzelnen betrachtet hat auch das Ergebnis einer solchen Untersuchung nur eingeschränkte Aussagekraft über Ausmaß, Schwere oder Verlauf der Parodontitis.

Die immunologische Diagnostik verzeichnet ebenfalls eine Zunahme. Es existieren kommerzielle Tests zur Untersuchung von IL-1- Polymorphismen oder Tests zur Untersuchung der aktiven Form der Matrixmetalloproteinase: der Matrixmetalloproteinase-8 (aMMP-8). Die Aussagekraft der Untersuchungsergebnisse der IL-1-Polymorphismen zur Verlaufskontrolle der Parodontitis ist derzeit noch unklar. Untersuchungsergebnisse der Konzentration der aMMP-8 im Sulkusfluid korrelieren hingegen mit den Destruktionsprozessen im Verlauf der Parodontitis.

Die Vielfalt der diagnostischen Definitionsvarianten, die vage Aussagekraft der Taschensondierungstiefe sowie die zahlreichen Indices führen dazu, dass der direkte Vergleich unterschiedlicher epidemiologischer Studien kaum möglich ist. Dabei sind epidemiologische Studien für das Verständnis der Ätiologie der Parodontitis von entscheidender Bedeutung. Erkenntnisse aus epidemiologischen Studien hatten im Verlauf der 90er Jahre des letzten Jahrhunderts zu einem Paradigmenwechsel geführt (sog. Sri-Lanka-Studie von Loe, Anerud et al. 1986, NHANES III 1997). Sie revolutionierten das Wissen über die Ätiologie der Parodontitis grundsätzlich, sodass der Fokus der Aufmerksamkeit auf die immunologische Komponente dieser Erkrankung gelenkt wurde. Werden die Ergebnisse epidemiologischer Studien dennoch komparativ betrachtet, so fällt aus den genannten Gründen eine besonders große Streubreite auf.

Dass der Fortschritt beim Verständnis der Parodontitis im Verlauf der letzten Dekade langsamer vorangeschritten war, erscheint daher nicht nur auf subjektive Beobachtung begründet. Die Verlangsamung scheint nicht nur der Komplexität der zugrunde liegenden immunologischen Mechanismen geschuldet. Auch zur Entschlüsselung dieser Mechanismen könnten Ergebnisse epidemiologischer Studien, sofern sie vergleichbar wären, beitragen. Zweifellos ist die Diagnostik der Parodontitis hinter dem allgemeinen Fortschritt zurückgeblieben. Sie fußt nahezu ausschließlich auf klinischen Messmethoden, die seit mehr als einem halben Jahrhundert unverändert geblieben sind. Klinische Messmethoden sind jedoch behandlerabhängig, subjektiv und unterliegen zweifelsfrei einer höheren Fehlerquote als labordiagnostische Parameter. Ohne zuverlässige, reproduzierbare und standardisierte Diagnostik kann es bei Erforschung und Erkenntnisgewinn dieser so bedeutenden Erkrankung keinen adäquaten Fortschritt

geben. Schließlich erfolgt auch die Erforschung der Risikofaktoren, die mit dieser Erkrankung im Zusammenhang stehen, epidemiologisch mittels deskriptiver Statistik. Einen Durchbruch könnte eine standardisierte Labordiagnostik ermöglichen. Epidemiologische Studien, deren Probanden anhand solcher Diagnostik erfasst würden, wären dann um ein Vielfaches besser vergleichbar.

Aus den genannten Gründen besteht unter Klinikern und unter Forschenden gleichermaßen der Wunsch nach einem biochemischen Marker im Speichel. Derartige Biomarker würden es sowohl ermöglichen, Ausmaß und Schweregrad der Erkrankung zu evaluieren, als auch, die Erkrankung im Frühstadium zu erfassen. Falls sie sich als valide und zuverlässig erweisen sollten, würde eine solche Diagnostik die Abhängigkeit von klinischen Messungen und Indices verringern. Sie könnte zu einer besseren Vergleichbarkeit diagnostischer Daten führen und die Früherkennung dieser Erkrankung bereits vor Eintritt eines Schadens ermöglichen. Im Vergleich zur aufwändigen Messung der Taschentiefe würde ein biochemischer Marker im Speichel die Diagnostik vereinfachen, ihre Reproduzierbarkeit würde erhöht. Die Speichelentnahme bietet den Vorteil einer einfachen und noninvasiven Verfügbarkeit. Im Gegensatz zur Messung der Taschensondierungstiefe müsste die Durchführung einer Speichelentnahme nicht durch einen erfahrenen Zahnarzt erfolgen. Sie könnte von Hilfskräften jeder medizinischen Einrichtung vorgenommen werden, gleichwohl welcher Fachrichtung. Eine derart große Vereinfachung der Diagnostik könnte dazu verhelfen, die enorme Bedeutung dieser Erkrankung weiter zentripetal ins Bewusstsein aller Mediziner zu rücken.

2 Fragestellung

Das Ziel der vorliegenden experimentellen Studie besteht in der Untersuchung der proinflammatorischen Interleukine IL-8 und IL-12 und der antiinflammatorischen Interleukine IL-4 und IL-10 im Spülspeichel an Parodontitis erkrankter Patienten und gesunder Probanden. Dabei soll eruiert werden, ob und in welchem Umfang sich die Konzentration der Interleukine IL-4, IL-8, IL-10 und IL-12 in den Speichelproben Erkrankter von der gesunder Patienten unterscheidet. Da bei der Diagnostik der Parodontitis standardisierte und präzise reproduzierbare diagnostische Verfahren in Form einer Labordiagnostik fehlen, soll anhand der ermittelten Ergebnisse der Frage nachgegangen werden, ob das Vorliegen einer Parodontitis mithilfe der ermittelten Prävalenzen im Speichel diagnostisch erfasst werden kann. Können die im Rahmen der vorliegenden Arbeit untersuchten Interleukine einen Beitrag zu einer mit bestehenden Erkenntnissen leisten? Ein weiteres Ziel der Untersuchung der Prävalenz der Interleukine IL-4, IL-8, IL-10 und IL-12 im Spülspeichel ist ein Erkenntnisgewinn im Bereich des Zusammenspiels zwischen den verschiedenen Faktoren des lokalen Entzündungsgeschehens und den untersuchten Interleukinen.

In diesem Kontext werden auch epidemiologische Daten erhoben. Anhand dieser Daten soll untersucht werden, inwiefern die festgestellten Interleukinprävalenzen mit Geschlecht, Alter, Nikotinabusus, Anzahl der Zähne und Anzahl der betroffenen Zähne in Zusammenhang stehen.

3 Material und Methode

3.1 Material

Zur Probenentnahme wurden folgende Materialien verwendet:

- sterile Einwegspritzen aus Kunststoff: B.Braun Injekt® Luer, 2 ml (B. Braun Melsungen AG, 34212 Melsungen, Deutschland)
- Isotone Kochsalzlösung 0,9% Ecoflac plus (B. Braun Melsungen AG, 34212 Melsungen, Deutschland)
- sterile, verschließbare Probengläschen aus Kunststoff: neoScrew-Microtubes®, 2,0 ml (neoLab Migge Laborbedarf-Vertriebsgesellschaft GmbH, 69123 Heidelberg)

Die für den Nachweis des IL-4 benötigten Reagenzien wurden von der Firma Invitrogen Corporation, 542 Flynn Road, Camarillo, CA 93012 USA (# KHC 0042) bezogen. Für den Nachweis der Interleukine IL-8, IL-10 und IL-12 wurden die entsprechenden Reagenzien von der Firma BioSource Europe S.A., 1400 Nivelles, Belgien (# KHC 0082, # KHC 0102, # KHC 0122) geliefert.

Reagenzien und Materialien zur Bestimmung des Interleukin 4:

- humanes Standardinterleukin (Invitrogen Corporation, 542 Flynn Road, Camarillo, CA 93012, USA)
- Puffer zur Verdünnung des Standards (Standardverdünnungspuffer) (Invitrogen Corporation, 542 Flynn Road, Camarillo, CA 93012, USA)
- Inkubationspuffer (Invitrogen Corporation, 542 Flynn Road, Camarillo, CA 93012, USA)
- antikörperbeschichtete Mikrotiterplatten (Streifen mit jeweils 8 Mikroküvetten) (Invitrogen Corporation, 542 Flynn Road, Camarillo, CA 93012, USA)
- Biotin-Konjugat (Invitrogen Corporation, 542 Flynn Road, Camarillo, CA 93012, USA)
- Streptavidin-Peroxidase (Invitrogen Corporation, 542 Flynn Road, Camarillo, CA 93012, USA)

- Lösung zur Verdünnung der Streptavidin-Peroxidase (Invitrogen Corporation, 542 Flynn Road, Camarillo, CA 93012, USA)
- gepufferte Waschlösung (25-faches Konzentrat) (Invitrogen Corporation, 542 Flynn Road, Camarillo, CA 93012, USA)
- Tetramethylbenzidin-Substratlösung (TMB, stabilisiertes Chromogen) (Invitrogen Corporation, 542 Flynn Road, Camarillo, CA 93012, USA)
- Stopplösung (Invitrogen Corporation, 542 Flynn Road, Camarillo, CA 93012, USA)
- Zellstoff (Askina Brauncel Zellstofftupfer, B. Braun Melsungen AG, 34212 Melsungen, Deutschland)
- Klebefolie zum Abdecken der antikörperbeschichteten Mikrotiterplatten (Invitrogen Corporation, 542 Flynn Road, Camarillo, CA 93012, USA)
- Mikroplatten-Halterahmen für die antikörperbeschichteten Mikrotiterplatten (Invitrogen Corporation, 542 Flynn Road, Camarillo, CA 93012, USA)
- Ampuwa für Spülzwecke (Lösung zur Verdünnung des gepufferten Waschlösungskonzentrats) (Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschland)

Reagenzien und Materialien zur Bestimmung der Interleukine 8, 10 und 12:

- humanes Standardinterleukin (BioSource Europe S.A., 1400 Nivelles, Belgien)
- Puffer zur Verdünnung des Standards (Standardverdünnungspuffer) (BioSource Europe S.A., 1400 Nivelles, Belgien)
- Inkubationspuffer (BioSource Europe S.A., 1400 Nivelles, Belgien)
- antikörperbeschichtete Mikrotiterplatten (Streifen mit jeweils 8 Mikroküvetten) (BioSource Europe S.A., 1400 Nivelles, Belgien)
- Biotin-Konjugat (BioSource Europe S.A., 1400 Nivelles, Belgien)
- Streptavidin-Peroxidase (BioSource Europe S.A., 1400 Nivelles, Belgien)
- Lösung zur Verdünnung der Streptavidin-Peroxidase (BioSource Europe S.A., 1400 Nivelles, Belgien)
- gepufferte Waschlösung (25-faches Konzentrat) (BioSource Europe S.A., 1400 Nivelles, Belgien)

Material und Methode

- Tetramethylbenzidin-Substratlösung (TMB, stabilisiertes Chromogen) (BioSource Europe S.A., 1400 Nivelles, Belgien)
- Stopplösung (BioSource Europe S.A., 1400 Nivelles, Belgien)
- Zellstoff (Askina Brauncel Zellstofftupfer, B. Braun Melsungen AG, 34212 Melsungen, Deutschland)
- Klebefolie zum Abdecken der antikörperbeschichteten Mikrotiterplatten (BioSource Europe S.A., 1400 Nivelles, Belgien)
- Mikroplatten-Halterahmen für die antikörperbeschichteten Mikrotiterplatten (BioSource Europe S.A., 1400 Nivelles, Belgien)
- Ampuwa für Spülzwecke (Lösung zur Verdünnung des gepufferten Waschlösungskonzentrats) (Fresenius Kabi Deutschland GmbH, Bad Homburg, Deutschland)

Es wurden folgende Geräte verwendet:

- Spektralphotometer (Anthos Labtec Instruments GmbH, Wals-Siezenheim, Österreich)
- Vortexgerät (Janke & Kunkel, IKA-Labortechnik, Deutschland)
- Präzisionspipette Typ Gilson® (Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Deutschland)
- Pipettenspitzen (Einweg), Typ Gilson® (Greiner Bio-One GmbH, Frickenhausen, Deutschland)
- Eppendorfgefäße (Eppendorf AG, Hamburg, Deutschland)
- Spritzflasche aus Kunststoff
- Gefriertruhe -20 °C
- Drucker
- PC

3.2 Probandengut und Untersuchung der Probanden

Im Rahmen der hier vorgelegten wissenschaftlichen Studie wurden insgesamt 106 bezahlte Probanden untersucht, die in der eigenen Zahnarztpraxis in München (Zahnarztpraxis Gerhardt Klein, Rumfordstr. 21a, 80469 München) rekrutiert wurden. Bei sämtlichen Probanden wurden neben einer allgemeinen Anamnese eine zahnärztliche Untersuchung und eine Parodontaluntersuchung durchgeführt. Zusätzlich dazu wurden bei den erkrankten Studienteilnehmern rezente röntgenologische Untersuchungen des stomatognathen Systems in Form von Orthopantomogrammen (OPT) auf das Vorhandensein apikaler Prozesse oder anderer entzündlicher Prozesse hin geprüft. Bei sämtlichen Probanden wurden Speichelproben entnommen. Die Untersuchungsergebnisse der Speichelproben sowie die epidemiologischen Daten, die von diesen Patienten gewonnen wurden, bildeten die Grundlage der statistischen Auswertung.

Von insgesamt 106 Probanden waren zum Zeitpunkt der Untersuchung 51 an einer chronischen, akuten oder aggressiven Form der Parodontitis erkrankt und bildeten daher die Studiengruppe der Erkrankten. Die übrigen Teilnehmer bildeten mit einer Anzahl von 55 Probanden das Studienkollektiv der Gesunden, somit die Kontrollgruppe. Bei den erkrankten Patienten handelte es sich um eine Studienpopulation, deren internistische Anamnese unauffällig war und deren Probanden zum Zeitpunkt der Untersuchung folgende Kriterien erfüllten: Das Gebiss musste mindestens 12 Zähne aufweisen, wobei mindestens ein Drittel der vorhandenen Zähne Symptome einer klinischen Parodontitis, also eine Taschentiefe von mindestens 3,5 mm, aufwies. Patienten mit nekrotisierenden Formen der Parodontitis wurden aus der Studie ausgeschlossen.

Als Kontrollgruppe wurden 55 asymptomatische Probanden ausgewählt, die sich ohne Beschwerden zur zahnärztlichen Routinekontrolle vorstellten. Deren Anamnese wies keine Auffälligkeiten auf. Eine Taschensondierungstiefe von mehr als 2 mm führte zum Ausschluss aus diesem Kollektiv. Die gesunden Probanden waren weitgehend frei von Anzeichen einer Gingivitis, sodass bei der Messung des Sulkus-Blutungs-Index (SBI)

für diese Teilnehmer ein höherer Wert als 14 % als Ausschlusskriterium galt. Eine Beschreibung der Indices API, SBI und PSI erfolgt im weiteren Verlauf dieses Kapitels.

Des Weiteren mussten die Probanden dieser Gruppe folgende Kriterien erfüllen: Vorhandensein von mindestens 12 Zähnen und Messung des PSI-Codes wies keinen höheren Wert als Stufe 2 auf.

Sowohl gesunde als auch kranke Probanden, die in der Anamnese andere als die Parodontitis betreffende akute oder chronische Entzündungen sowie entzündliche Erkrankungen angaben, wurden aus der Studie bereits im Vorfeld ausgeschlossen. Ebenso wurden auch Probanden, die bei der röntgenologischen Untersuchung andere entzündlich bedingte Auffälligkeiten aufwiesen, aus der Studie ausgeschlossen. Diese Maßnahmen erfolgten mit dem Zweck, Störfaktoren durch andere entzündlich bedingte Erkrankungen zu vermeiden. Ebenso galt auch das Vorliegen anderer Erkrankungen, die auf das Interleukinbild Einfluss nehmen könnten, als Ausschlusskriterium, sodass Patienten, die an inneren Erkrankungen litten, ebenfalls an dieser Studie nicht teilnahmen. Schwangere wurden ebenfalls aus dieser Studie ausgeschlossen. Somit wurden lediglich anamnestisch unauffällige Probanden in diese Studie einbezogen, sodass Nebenfaktoren und das Auftreten einer Parodontitis als Manifestation systemischer Erkrankungen ausgeschlossen werden konnten.

Vor der Probenentnahme wurden alle Probanden ausführlich über das Ziel der Studie, das Vorgehen bei der Entnahme der Proben und die durchgeführten Datenschutzmaßnahmen aufgeklärt. Die freie Einwilligung vorausgesetzt, wurde bei jedem Probanden auf gleiche Weise eine Speichelprobe entnommen. Die Aufnahme sämtlicher Daten erfolgte in irreversibel anonymisierter Form. Proben und Daten wurden unter fortlaufenden Nummern geführt.

Unmittelbar nach der Probenentnahme wurden bei allen Probanden der Approximalraum-Plaque-Index (API), der Sulkus-Blutungs-Index (SBI) und der Parodontale Screening Index (PSI) erhoben. Schließlich wurde bei allen Probanden die parodontale Taschentiefe sämtlicher Zähne an zwei Messpunkten pro Zahn gemessen

und in einen Parodontalplan eingetragen (Dar. 4). Mittels eines zeitnah angefertigten Orthopantomogramms (Datum der Anfertigung nicht weiter zurückliegend als 6 Monate vor der Untersuchung) wurden die Ergebnisse der klinischen Messung bei den parodontal erkrankten Probanden radiologisch kontrolliert.

Jeder einzelne Proband wurde nach seinem Nikotinusus befragt. Nur diejenigen Probanden, die einen Zigarettenkonsum von 6 Zigaretten täglich oder mehr angaben, wurden als Raucher erfasst. Gab ein Proband einen Konsum von 5 Zigaretten oder weniger pro Tag an, so wurde er als Nichtraucher eingestuft. Probanden, die einen Konsum von Pfeifentabak angaben, wurden von der Studie ausgeschlossen.

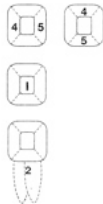
Schließlich wurden Daten wie Geburtsdatum, Alter, Geschlecht und Anzahl der vorhandenen Zähne erfasst. Bei den erkrankten Probanden wurde zusätzlich zur Anzahl der vorhandenen Zähne die Anzahl der Zähne ermittelt, die eine Taschensondierungstiefe von mehr als 3,5 mm aufwiesen. Aus diesen beiden Angaben wurde für jeden erkrankten Probanden der prozentuale Anteil befallener Zähne errechnet.

Die Erhebung der epidemiologischen Daten erfolgte durch Befragung unmittelbar nach der Probenentnahme und wurden vom Verfasser dieser Studie auf ein irreversibel anonymisiertes Formular ohne Personenbezug handschriftlich notiert (Dar. 4). Die Anonymisierung erfolgte durch Vergabe einer fortlaufenden Nummer.

PARODONTALSTATUS Blatt 2

Hinweise zum Ausfüllen

- Die Sondiertiefen der Zahnfleischtaschen sind in mm mesial-distal oder facial-oral einzutragen:
- Der Grad (I,II,III) der Zahnlockerung ist in das zentrale Feld des Zahnbildes einzutragen:
- Der Grad (1,2,3) des Furkationsbells ist wie folgt einzutragen:
- Fehlende Zähne sind durchzukreuzen.
- Rezessionen sind in mm einzutragen.
- Einzutragen ist, ob ein geschlossenes oder offenes Vorgehen geplant ist.
- Wird dieser Vordruck für die Abrechnung einer Therapieergänzung verwendet, sind nur die Nummern P202, P203 oder 111 abrechnungsfähig.



Darstellung 4

Formular Parodontalstatus (Schützdruck, 30159 Hannover, Deutschland, Vordr.-Nr. Z 502 1.04)

Name		Geb. am		Kassen-Nr.		Versicherten-Nr.		Status		Vertragszahnarzt-Nr.		VK gültig bis		Datum	

Name		Geb. am		Kassen-Nr.		Versicherten-Nr.		Status		Vertragszahnarzt-Nr.		VK gültig bis		Datum	

Oberkiefer

rechts links

Unterkiefer

Name		Geb. am		Kassen-Nr.		Versicherten-Nr.		Status		Vertragszahnarzt-Nr.		VK gültig bis		Datum	

Geplante Leistungen

Geb.-Nr. Anzahl

4

P200

P201

P202

P203

108

111

Datum, Unterschrift und Stempel des Zahnarztes

Gutachten

☐ Gutachterlich befürwortet

☐ Gutachterlich nicht befürwortet (Begründung auf besonderem Blatt)

Datum, Unterschrift und Stempel des Gutachters

Abrechnung

Geb.-Nr. Anzahl Punkte Anz. x Pkt.

4

P200

P201

P202

P203

108

111

Summe x Punktwert = Honorar €

sonstige Kosten €

Abschluss der Behandlung, Datum

Datum, Unterschrift des Zahnarztes

3.2.1 Approximalraum-Plaque-Index (API)

Der Approximalraum-Plaque-Index (API) erfasst die Plaquebesiedelung der Zahnzwischenräume quantitativ. Die Anzahl plaquekontaminierter Zahnzwischenräume wird quadrantenweise erhoben. Dabei wurde beurteilt, ob in den Approximalräumen der Zähne Plaque vorhanden war. Orale und vestibuläre Flächen blieben dabei unberücksichtigt, da sie für den Patienten bei der täglichen Mundhygiene leicht zugänglich sind. Der erste Quadrant wird von oral, der zweite von vestibulär, der dritte oral und der vierte von vestibulär untersucht. Je nachdem, ob ein Plaquefilm vorhanden war, wurde der Approximalraum als positiv bewertet und das Ergebnis in eine Tabelle

Material und Methode

eingetragen. Der API errechnete sich darauf als prozentualer Anteil der mit Plaque besiedelten Zwischenräume von der Gesamtzahl der bewerteten Zwischenräume.

MUNDHYGIENE- UND ENTZÜNDUNGS-STATUS

Name/Vorname Patient _____ Geb. Datum _____

I Oberkiefer rechts

SBI

	I buccal	II palatal
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		

Sitzungen

	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6
7												
6												
5												
4												
3												
2												
1												
Summe												

IV Unterkiefer rechts

II Oberkiefer links

API

	I palatal	II buccal
1		
2		
3		
4		
5		
6		
7		

Sitzungen


	6	5	4	3	2	1	1	2	3	4	5	6
7												
6												
5												
4												
3												
2												
1												
Summe												

III Unterkiefer links

Ergebnisse

Datum	Sitzung	SBI %	API %
	1		
	2		
	3		
	4		
	5		
	6		

Professionelle Mundhygiene mit System



gsk GlaxoSmithKline
GlaxoSmithKline Consumer Healthcare
Bülmatten 1, D-77815 Bühl

Darstellung 5


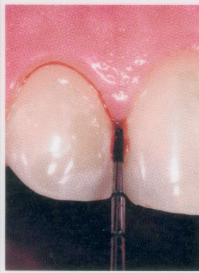

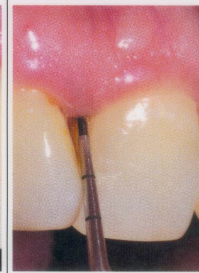
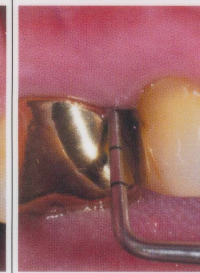
Mundhygiene- und Entzündungsstatus (GlaxoSmithKline Healthcare, 77815 Bühl, Deutschland) - Formular zur Erfassung der API- und SBI Indices

3.2.2 Sulkus-Blutungs-Index (SBI)

Bei der Erhebung des Sulkus-Blutungs-Index wurde der zahnumgebende Gingivalrand mit einer stumpfen Parodontalsonde leicht berührt. Anschließend wurde beobachtet, ob die Berührung eine Blutung provoziert hatte. Die Untersuchung der Quadranten erfolgte dabei entgegengesetzt zur vorausgegangenen Untersuchung (API), sodass der erste Quadrant von vestibulär, der zweite von oral usw. untersucht wurde. Der SBI errechnete sich als prozentualer Anteil der blutenden Parodontien von der Gesamtzahl der bewerteten Parodontien.

3.2.3 Parodontaler Screening Index (PSI)

Des Weiteren wurde bei allen Probanden der Parodontale Screening Index erhoben. Bei dieser Untersuchung wurde das Gebiss in Sextanten aufgeteilt und bei allen Zähnen Taschentiefe und Blutungsneigung festgestellt (Dar. 6). Der jeweils höchste Wert eines jeden Sextanten wurde entsprechend der Codierung notiert.

PSI – Der Parodontale Screening Index				
Code 0	Code 1	Code 2	Code 3	Code 4
				
schwarzes Band bleibt vollständig sichtbar			schwarzes Band bleibt teilweise sichtbar	schwarzes Band verschwindet ganz
keine Blutung	Blutung auf Sondieren	Blutung auf Sondieren	Blutung auf Sondieren möglich	Blutung auf Sondieren möglich
kein Zahnstein/Plaque	kein Zahnstein/Plaque	Zahnstein/Plaque und/oder	Zahnstein/Plaque möglich	Zahnstein/Plaque möglich
keine defekten Restaurationsränder	keine defekten Restaurationsränder	defekte Restaurationsränder	defekte Restaurationsränder möglich	defekte Restaurationsränder möglich
klinische Abnormitäten (z. B. Furkationsbeteiligung, mukoging. Probleme, Rezessionen, Zahnbeweglichkeit etc.) werden mit einem Stern * gekennzeichnet				

Darstellung 6

Der Parodontale Screening Index PSI (Kassenzahnärztliche Bundesvereinigung 50931 Köln, Deutschland und Deutsche Gesellschaft für Parodontologie e.V., 93055 Regensburg, Deutschland)

3.3 Probenentnahme

Zur Probengewinnung wurden den Teilnehmern 2 ml steriler physiologischer Kochsalzlösung in einer sterilen Einwegspritze gereicht. Sie wurden aufgefordert, den Mund mit der Flüssigkeit 20 Sekunden lang zu spülen. Anschließend wurden die Probanden angewiesen, den gesamten Flüssigkeitsinhalt der Mundhöhle in ein steriles, verschließbares Probengläschen aus Kunststoff auszuspucken. Unmittelbar nach der Entnahme wurden die Proben bei 2 °C zwischengelagert. Innerhalb von maximal 8

Stunden erfolgte der Transport der Proben bei 2 °C, um dann bei ca. -20 °C gelagert zu werden. Lagerung und Verarbeitung der Proben erfolgte im Labor der Klinik und Poliklinik für Frauenheilkunde und Geburtshilfe, Klinikum der Universität München, Campus Großhadern, Marchionistr. 15, 81377 München, Deutschland (Labor Prof. Dr. Rainer Weissenbacher).

3.4 Verarbeitung der Proben

Der Inhalt der Probengläschen wurde am selben Tag wie folgt weiterverarbeitet: Nach gründlicher Vermengung des Inhalts durch Gabe der Probengläschen auf das Vortex-Gerät erfolgte das Zentrifugieren dieser Behälter bei 5000 Umdrehungen pro Minute für eine Dauer von 2 Minuten. Anschließend wurde der Überstand abpipettiert und in ein steriles Eppendorfgefäß gefüllt, während das Sediment in 0,5 ml Phosphate-Borate-Saline-Puffer (PBS-Puffer) resuspendiert wurde. Um das gewonnene Untersuchungsmaterial zu konservieren, wurden beide Gefäße bei ca. -20 °C tiefgefroren. Für die Bestimmung der Interleukine wurde nur der Überstand weiterverarbeitet. Zur quantitativen Bestimmung der Interleukine IL-4, IL-8, IL-10 und IL-12 in den Speichelproben wurde ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay) angewendet.

3.5 Untersuchung der Proben – Sandwich-enzyme-linked immunosorbent assay (Sandwich-ELISA)

Das in der vorliegenden Arbeit angewendete Verfahren zum Nachweis der Interleukine IL-4, IL-8, IL-10 und IL-12 wird als Sandwich-ELISA (Sandwich-enzyme-linked immunosorbent assay) bezeichnet. Es handelt sich dabei um ein enzymatisches, nichtkompetitives Nachweisverfahren, das beim quantitativen In-vitro-Nachweis von Proteinen Anwendung findet. In der vorliegenden Arbeit wurde dieses Verfahren zur Bestimmung der Menge der Interleukine im Speichel angewendet. Das Prinzip des Verfahrens beruht auf der Antigen-Antikörper-Bindung. Mikrotiterplatten werden mit einem monoklonalen, für das nachzuweisende Antigen (IL-4 bzw. IL-8 bzw. IL-10 bzw.

IL-12) spezifischen Antikörper beschichtet (coat antibody). Patientenproben und Standards werden in die Küvetten solcher Mikrotiterplatten pipettiert. Dadurch entstehen Antigen-Antikörper-Komplexe, die an der Oberfläche der Mikrotiterplatten fixiert sind. Die folgenden Schritte dienen der Sichtbarmachung der Antigen-Antikörper-Komplexe. Zusätzlich zu den Patientenproben und Standards wird ein zweiter Antikörper (Biotin-Konjugat) in die Küvetten der Mikrotiterplatte pipettiert. Beim sogenannten Sandwich-ELISA-Verfahren werden zwei unterschiedliche monoklonale Antikörper verwendet, die beide spezifisch an das nachzuweisende Antigen binden. Während der erste Antikörper das nachzuweisende Antigen an die Oberfläche der Küvetten bindet, dient der zweite Antikörper der Detektion (detection antibody). Die beiden Antikörper binden an unterschiedlichen Stellen des Antigens. Nach einer Inkubationszeit entstehen Komplexe, bei denen sich das Antigen wie bei einem Sandwich zwischen zwei Antikörpern befindet, wobei einer der beiden Antikörper an der Oberfläche der Küvette gebunden ist. Während der Inkubationszeit werden die Küvetten der Mikrotiterplatten mit Klebefolie vor Austrocknung geschützt. Durch anschließendes Waschen werden ungebundene Moleküle entfernt. Es folgt die Zugabe des Enzyms Streptavidin-Peroxydase. Dieses Enzym bindet an das Epitop des Detektionsantikörpers und dient der Signalverstärkung. Es folgt ein weiteres Aspirieren und Waschen. Durch Zugabe eines passenden Substrats (stabilisiertes Chromogen) werden die Antikörper-Antigen-Komplexe sichtbar gemacht und können quantifiziert werden. Da die Intensität der Farbe direkt proportional zur Menge des gebundenen Interleukins ist, erfolgt die Quantifizierung mithilfe einer spektralphotometrischen Analyse. Die Konzentration des Interleukins in den Proben errechnet sich in Bezug zur Standardverdünnungsreihe. Da die Analytkonzentrationen der Standardverdünnungsreihe bekannt sind, kann aus deren Messergebnissen eine Eichkurve (Standardkurve) erstellt werden. Die Konzentration der Proben errechnet sich anhand dieser Standardkurve.

3.6 Verarbeitung der Proben

3.6.1 Quantitative Bestimmung des IL-4

Erstellen der Standardverdünnungsreihe - Zunächst wurde die Herstellung der Standardverdünnungslösungen durchgeführt. Sie erfolgte durch Auflösen des humanen IL-4-Standards in einer definierten Menge Standardpuffer nach Herstellerangabe. Um eine vollständige Auflösung zu gewährleisten, ruhte die Lösung 10 Minuten. Dadurch entstand eine Verdünnung mit einer Konzentration von 5000 pg/ml. Aus dieser Lösung wurde eine Standardverdünnungsreihe hergestellt, indem zunächst 0,1 ml dieser Verdünnung mit 0,9 ml Standardverdünnungspuffer in einem Eppendorfgefäß vermischt wurde. Daraus entstand die erste Verdünnungslösung der Standardverdünnungsreihe mit einer Konzentration von 500 pg/ml. Jede weitere Lösung der Standardverdünnungsreihe entstand durch Hinzugeben von 0,2 ml der vorangehenden Konzentrationslösung zu 0,2 ml Standardverdünnungspuffer, sodass Konzentrationslösungen mit absteigenden Konzentrationen von 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62,5 pg/ml, 31,2 pg/ml, 15,6 pg/ml und 7,8 pg/ml entstanden. Die letzte Standardkonzentrationslösung enthielt reine Pufferlösung und somit eine Konzentration von 0 pg/ml an humanem IL-4-Standard (Dar. 7).

1	unverdünnt (Ausgangskonzentration)	500
2		250
3		125
4		62,5
5		31,2
6		15,6
7		7,8
8		0

Darstellung 7

Herstellung der Standardverdünnungsreihe für das Interleukin-4

Herstellung der Streptavidin-HRP-Lösung - Für jede Reihe (8 Küvetten) der verwendeten Mikrotiterplatte wurden 10 µl des 100-fachen Streptavidin-HRP-Konzentrats mit 1 ml des entsprechenden Puffers verdünnt, um eine Streptavidin-HRP-Lösung zu erhalten.

Herstellung der gepufferten Waschlösung - Eine Einheit des 25-fachen Waschpufferkonzentrats wurde mit 24 Einheiten destilliertem Wasser (Ampuwa für Spülzwecke) gemischt. Dies ergab 2500 ml Waschpufferlösung.

Durchführung des ELISA-Tests für IL-4 - Nachdem alle Reagenzien und Proben Raumtemperatur erreicht hatten, wurden 10 Streifen Mikrotiterplatte mit je 8 Mikroküvetten vorbereitet und in den entsprechenden Halterahmen befestigt. Die Reihen 1 und 2 der Mikrotiterplatten wurden für die Interleukin-Standardverdünnungsreihen verwendet und mit den entsprechenden Standardlösungen befüllt. In die Mikroküvetten für Proben wurden je 100 µl der Probenflüssigkeit pipettiert. Unmittelbar darauf konnte die ligandenmarkierte Antikörperlösung (Biotin-Konjugat) in einer Menge von 50 µl pro Mikroküvette zugefügt werden. Nach Abdecken der Mikrotiterplatten erfolgte eine zweistündige Inkubation bei Raumtemperatur. Anschließend wurden 4 Dekantier- und Spülvorgänge mit je 400 µl Waschpuffer pro Mikroküvette durchgeführt, um alle ungebundenen Moleküle zu entfernen. Es folgte die Zugabe von 100 µl Streptavidin-HRP-Lösung in jede Mikroküvette, woraufhin die Mikrotiterplatte abgedeckt und in diesem Zustand für 30 Minuten zur Inkubation belassen wurde. Daraufhin wurde erneut ein vierfaches Dekantieren und Spülen der Mikroküvetten durchgeführt. Der anschließenden Zugabe von 100 µl stabilisiertem Chromogen in jede Mikroküvette (TMB-Substratlösung) folgte eine erneute Inkubation von 20 Minuten, jetzt unter Lichtausschluss. Entgegen den Herstellerangaben wurde hier die Inkubationszeit von 30 Minuten auf 20 verkürzt, damit der Farbumschlag und die daraus resultierende optische Dichte eine bestimmte obere Messgrenze des jeweils verwendeten Photometers nicht überschritten. Es folgte die Zugabe von 100 µl Stopplösung pro Mikroküvette, die einen Farbumschlag von

Blau nach Gelb bewirkte. Zuletzt wurde die optische Dichte mithilfe eines Spektralphotometers bei einer Referenzwellenlänge von 492 nm und einer Wellenlänge von 450 nm bestimmt.

Reagenzien

- Humanes Interleukin-4 (h-IL-4-Standard)
- Puffer zur Verdünnung des Standards (Standardverdünnungspuffer)
- h-IL-4 beschichtete Mikroküvetten (Streifen mit jeweils 8 Mikroküvetten)
- h-IL-4-Biotin-Konjugat
- Streptavidin-Peroxidase (HRP) in 100-facher Konzentration
- Lösung zur Verdünnung der Streptavidin-Peroxidase (HRP)
- Gepufferte Waschlösung (25-faches Konzentrat)
- Tetramethylbenzidin-Substratlösung (TMB)
- Stopplösung

3.6.2 Quantitative Bestimmung des IL-8

Erstellen der Standardverdünnungsreihe - Die Herstellung der Standardverdünnungslösungen erfolgte durch Auflösen des humanen IL-8-Standards in einer definierten Menge Standardpuffer nach Herstellerangabe. Um eine vollständige Auflösung zu gewährleisten, ruhte die Lösung 10 Minuten. Dadurch entstand eine Verdünnung mit einer Konzentration von 1000 pg/ml. Jede weitere Lösung der Standardverdünnungsreihe entstand durch Hinzugeben von 0,2 ml der vorangehenden Konzentrationslösung zu 0,2 ml Standardverdünnungspuffer, sodass Konzentrationslösungen mit absteigenden Konzentrationen von 500 pg/ml, 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62,5 pg/ml, 31,2 pg/ml und 15,6 pg/ml entstanden. Die letzte Standardkonzentrationslösung enthielt reine Pufferlösung und somit eine Konzentration von 0 pg/ml an humanem IL-8-Standard (Dar. 8).

1	unverdünnt (Ausgangskonzentration)	1000 pg/ml
2		500 pg/ml
3		250 pg/ml
4		125 pg/ml
5		62,5 pg/ml
6		31,2 pg/ml
7		15,6 pg/ml
8		0

Darstellung 8

Herstellung der Standardverdünnungsreihe für das Interleukin-8

Herstellung der Streptavidin-HRP-Lösung - Die Herstellung der Streptavidin-HRP-Lösung für die quantitative Bestimmung des IL-8 erfolgte analog zur Vorgehensweise bei der Durchführung des ELISA-Tests für IL-4.

Herstellung der gepufferten Waschlösung - Die Herstellung der gepufferten Waschlösung für die quantitative Bestimmung des IL-8 erfolgte analog zur Vorgehensweise bei der Durchführung des ELISA-Tests für IL-4.

Durchführung des ELISA-Tests für IL-8 - Zunächst wurde sämtlichen Reagenzien und Proben ermöglicht, Raumtemperatur zu erreichen. 10 Streifen Mikrotiterplatte mit je 8 Mikroküvetten wurden vorbereitet und in den entsprechenden Halterahmen befestigt. Die Reihen 1 und 2 der Mikrotiterplatten wurden für die Interleukin-Standardverdünnungsreihen verwendet und mit den entsprechenden Standardlösungen befüllt. In die Mikroküvetten für Proben wurden je 50 µl der Probenflüssigkeit und 50 µl Biotin-Konjugat pipettiert. Nach Abdecken der Mikrotiterplatten erfolgte eine 90-minütige Inkubation bei Raumtemperatur. Anschließend wurden 4 Dekantier- und Spülvorgänge mit je 400 µl Waschpuffer pro Mikroküvette durchgeführt, um alle ungebundenen Moleküle zu entfernen. Es folgte die Zugabe von 100 µl Streptavidin-HRP-Lösung in jede Mikroküvette, woraufhin die Mikrotiterplatte abgedeckt und in

diesem Zustand für 30 Minuten zur Inkubation belassen wurde. Daraufhin wurde erneut ein vierfaches Dekantieren und Spülen der Mikroküvetten durchgeführt. Der anschließenden Zugabe von 100 µl stabilisiertem Chromogen in jede Mikroküvette (TMB-Substratlösung) folgte eine erneute Inkubation von 15 Minuten, jetzt unter Lichtausschluss. Entgegen den Herstellerangaben wurde hier die Inkubationszeit von 20 Minuten auf 15 verkürzt, damit der Farbumschlag und die daraus resultierende optische Dichte eine bestimmte obere Messgrenze des jeweils verwendeten Photometers nicht überschritten. Es folgte die Zugabe von 100 µl Stopplösung pro Mikroküvette, die einen Farbumschlag von Blau nach Gelb bewirkte. Schließlich wurde die optische Dichte mithilfe eines Spektralphotometers bei einer Referenzwellenlänge von 492 nm und einer Wellenlänge von 450 nm bestimmt.

Reagenzien

- humanes Interleukin-8 (h-IL-8-Standard)
- Puffer zur Verdünnung des Standards (Standardverdünnungspuffer)
- mit h-IL-8 beschichtete Mikroküvetten (Streifen mit jeweils 8 Mikroküvetten)
- h-IL-8-Biotin-Konjugat
- Streptavidin-Peroxidase (HRP), in 100-facher Konzentration
- Lösung zur Verdünnung der Streptavidin-Peroxidase (HRP)
- gepufferte Waschlösung (25-faches Konzentrat)
- Tetramethylbenzidin-Substratlösung (TMB)
- Stopplösung

3.6.3 Quantitative Bestimmung des IL-10

Erstellen der Standardverdünnungsreihe - Die Herstellung der Standardverdünnungslösungen erfolgte durch Auflösen des humanen IL-10-Standards in einer definierten Menge Standardpuffer nach Herstellerangabe. Dadurch entstand eine Verdünnung mit einer Konzentration von 5000 pg/ml. Die Herstellung der Standardverdünnungsreihe erfolgte analog zur Standardverdünnungsreihe zur quantitativen Bestimmung des IL-4, sodass Konzentrationslösungen mit absteigenden

Konzentrationen von 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62,5 pg/ml, 31,2 pg/ml, 15,6 pg/ml und 7,8 pg/ml entstanden. Die letzte Standardkonzentrationslösung enthielt reine Pufferlösung und somit eine Konzentration von 0 pg/ml an humanem IL-10-Standard (Dar. 9).

1	unverdünnt (Ausgangskonzentration)	500 pg/ml
2		250 pg/ml
3		125 pg/ml
4		62,5 pg/ml
5		31,2 pg/ml
6		15,6 pg/ml
7		7,8 pg/ml
8		0

Darstellung 9

Herstellung der Standardverdünnungsreihe für das Interleukin-10

Herstellung der Streptavidin-HRP-Lösung - Die Herstellung der Streptavidin-HRP-Lösung für die quantitative Bestimmung des IL-10 erfolgte analog zur Vorgehensweise bei der Durchführung des ELISA-Tests für IL-4.

Herstellung der gepufferten Waschlösung - Die Herstellung der gepufferten Waschlösung für die quantitative Bestimmung des IL-10 erfolgte analog zur Vorgehensweise bei der Durchführung des ELISA-Tests für IL-4.

Durchführung des ELISA-Tests für IL-10 - Auch bei dieser Analyse wurden zunächst alle Reagenzien und Proben bei Raumtemperatur auf Zimmertemperatur gebracht. Danach wurden 10 Streifen der Mikrotiterplatten mit je 8 Mikroküvetten vorbereitet und in den entsprechenden Halterahmen befestigt. Die Reihen 1 und 2 der Mikrotiterplatten wurden für die Interleukin-Standard-verdünnungsreihen verwendet und mit den entsprechenden Standardlösungen befüllt. Abweichend zu den übrigen Interleukinen musste im ersten Schritt der IL-10-Untersuchung in die Mikroküvetten mit

Standardlösungen ein Inkubationspuffer hinzugegeben werden. Sowohl von der Probenflüssigkeit als auch vom Inkubationspuffer wurden je 50 µl in jede Mikroküvette pipettiert. Anschließend wurde die Mikrotiterplatte abgedeckt und ruhte zwei Stunden lang zur Inkubation bei Raumtemperatur. Wie bei den vorher beschriebenen Interleukinuntersuchungen erfolgten anschließend 4 Dekantier- und Spülvorgänge mit je 400 µl Waschpuffer pro Vertiefung. Erst jetzt konnte die Zugabe von 100 µl Biotin-Konjugat erfolgen. Die Mikrotiterplatte wurde daraufhin erneut abgedeckt und konnte für 2 Stunden zur Inkubation bei Raumtemperatur ruhen. Analog zu den vorher beschriebenen Interleukinuntersuchungen wurden darauf erneut 4 Dekantier- und Spülvorgänge mit je 400 µl Waschpuffer pro Mikroküvette durchgeführt, um alle ungebundenen Moleküle zu entfernen. Es folgte die Zugabe von 100 µl Streptavidin-HRP-Lösung in jede Mikroküvette, woraufhin die Mikrotiterplatte abgedeckt und in diesem Zustand für 30 Minuten erneut zur Inkubation belassen wurde. Danach wurde erneut ein vierfaches Dekantieren und Spülen der Mikroküvetten durchgeführt. Der anschließenden Zugabe von 100 µl stabilisiertem Chromogen in jede Mikroküvette (TMB-Substratlösung) folgte eine erneute Inkubation von 20 Minuten, jetzt unter Lichtausschluss. Entgegen den Herstellerangaben wurde hier die Inkubationszeit von 30 Minuten auf 20 verkürzt, damit der Farbumschlag und die daraus resultierende optische Dichte eine bestimmte obere Messgrenze des jeweils verwendeten Photometers nicht überschritten. Es folgte die Zugabe von 100 µl Stopplösung pro Mikroküvette, die einen Farbumschlag von Blau nach Gelb bewirkte. Zuletzt wurde die optische Dichte mithilfe eines Spektralphotometers bei einer Referenzwellenlänge von 492 nm und einer Wellenlänge von 450 nm bestimmt.

Reagenzien

- humanes Interleukin-10 (h-IL-10-Standard)
- Puffer zur Verdünnung des Standards (Standardverdünnungspuffer)
- Inkubationspuffer
- mit h-IL-10 beschichtete Mikroküvetten (Streifen mit jeweils 8 Mikroküvetten)
- h-IL-10-Biotin-Konjugat
- Streptavidin-Peroxidase (HRP), in 100-facher Konzentration

- Lösung zur Verdünnung der Streptavidin-Peroxidase (HRP)
- gepufferte Waschlösung (25-faches Konzentrat)
- Tetramethylbenzidin-Substratlösung (TMB)
- Stopplösung

3.6.4 Quantitative Bestimmung des IL-12

Erstellen der Standardverdünnungsreihe - Die Herstellung der Standardverdünnungslösungen erfolgte durch Auflösen des humanen IL-12-Standards in einer definierten Menge Standardpuffer nach Herstellerangabe. Dadurch entstand eine Verdünnung mit einer Konzentration von 5000 pg/ml. Die Herstellung der Standardverdünnungsreihe erfolgte analog zur Standardverdünnungsreihe zur quantitativen Bestimmung des IL-4 und IL-10, sodass Konzentrationslösungen mit absteigenden Konzentrationen von 250 pg/ml, 125 pg/ml, 62,5 pg/ml, 31,2 pg/ml, 15,6 pg/ml und 7,8 pg/ml entstanden. Die letzte Standardkonzentrationslösung enthielt reine Pufferlösung und somit eine Konzentration von 0 pg/ml an humanem IL-12-Standard (Dar. 10).

1	unverdünnt (Ausgangskonzentration)	500 pg/ml
2		250 pg/ml
3		125 pg/ml
4		62,5 pg/ml
5		31,2 pg/ml
6		15,6 pg/ml
7		7,8 pg/ml
8		0

Darstellung 10

Herstellung der Standardverdünnungsreihe für das Interleukin-12

Herstellung der Streptavidin-HRP-Lösung - Die Herstellung der Streptavidin-HRP-Lösung für die quantitative Bestimmung des IL-12 erfolgte analog zur Vorgehensweise bei der Durchführung des ELISA-Tests für IL-4.

Herstellung der gepufferten Waschlösung - Die Herstellung der gepufferten Waschlösung für die quantitative Bestimmung des IL-12 erfolgte analog zur Vorgehensweise bei der Durchführung des ELISA-Tests für IL-4.

Durchführung des ELISA-Tests für IL-12 - Nachdem alle Reagenzien und Proben bei Raumtemperatur Zimmertemperatur erreicht hatten, wurden 10 Streifen der Mikrotiterplatten mit je 8 Mikroküvetten in den entsprechenden Halterahmen befestigt. In die Mikroküvetten für Proben wurden je 50 µl der Probenflüssigkeit und 50 µl Biotin-Konjugat pipettiert. Nach Abdecken der Mikrotiterplatten erfolgte eine zweistündige Inkubation bei Raumtemperatur. Anschließend wurden 4 Dekantier- und Spülvorgänge mit je 400 µl Waschpuffer pro Mikroküvette durchgeführt, um alle ungebundenen Moleküle zu entfernen. Es folgte die Zugabe von 100 µl Streptavidin-HRP-Lösung in jede Mikroküvette, woraufhin die Mikrotiterplatte abgedeckt und in diesem Zustand für 30 Minuten zur Inkubation belassen wurde. Daraufhin wurde erneut ein vierfaches Dekantieren und Spülen der Mikroküvetten durchgeführt. Der anschließenden Zugabe von 100 µl stabilisiertem Chromogen in jede Mikroküvette (TMB-Substratlösung) folgte, nun unter Lichtausschluss, eine erneute Inkubation, die 20 Minuten lang andauerte. Entgegen den Herstellerangaben wurde hier die Inkubationszeit von 30 Minuten auf 20 verkürzt, damit der Farbumschlag und die daraus resultierende optische Dichte eine bestimmte obere Messgrenze des jeweils verwendeten Photometers nicht überschritten. Es folgte die Zugabe von 100 µl Stopplösung pro Mikroküvette, die einen Farbumschlag von Blau nach Gelb bewirkte. Zuletzt wurde die optische Dichte mithilfe eines Spektralphotometers bei einer Wellenlänge von 450 nm und einer Referenzwellenlänge von 492 nm bestimmt.

Reagenzien

- humanes Interleukin-12 (h-IL-12-Standard)
- Puffer zur Verdünnung des Standards (Standardverdünnungspuffer)
- mit h-IL-12 beschichtete Mikroküvetten (Streifen mit jeweils 8 Mikroküvetten)
- h-IL-12-Biotin-Konjugat
- Streptavidin-Peroxidase (HRP), in 100-facher Konzentration
- Lösung zur Verdünnung der Streptavidin-Peroxidase (HRP)
- gepufferte Waschlösung (25-faches Konzentrat)
- Tetramethylbenzidin-Substratlösung (TMB)
- Stopplösung

3.7 Statistische Analyse

Im ersten Schritt der Analyse wurde die Verteilungsform der erhobenen Variablen untersucht, um festzustellen, ob in der weiteren Analyse die Anwendung parametrischer oder non-parametrischer Verfahren indiziert ist. Genutzt wurde dazu ein zweistufiges Verfahren, das die optische Überprüfung der Variablen (Histogramm mit Normalverteilungskurve) mit dem Kolmogorov- Smirnov-Anpassungstest (KSA-Test) kombiniert. Kommen beide Verfahren zu dem Ergebnis, dass die Annahme der Normalverteilung aufrechterhalten werden kann, ist die Anwendung parametrischer Testverfahren indiziert, anderenfalls sollte eine non-parametrische Teststrategie vorgezogen werden. Auf Grundlage dieser Überprüfung der Verteilungsformen kann die Annahme normalverteilter Werte für die Mehrzahl der getesteten Variablen nicht aufrechterhalten werden. Aus diesem Grund wurden für die folgenden Analyseschritte non-parametrische Analyseverfahren gewählt.

Die ermittelten Daten wurden anschließend der bivariaten Analyse zugeführt. Ziel dieser bivariaten Analysen ist es, diejenigen Variablen zu identifizieren, bei denen die Probandengruppen (Gesunde vs. Erkrankte) möglichst stark ausgeprägte und eindeutige Unterschiede (im Sinne statistischer Signifikanz) aufweisen. Im Fokus dieser Untersuchungen stehen systematische Unterschiede der zentralen Tendenz folgender Variablen: Alter, Geschlecht, Anzahl der Zähne, Anzahl betroffener Zähne,

Nikotinabusus und Speichelkonzentration sowie Parodontaler Screening Index (PSI), Sulkus-Blutungs-Index (SBI), Approximalraum-Plaque-Index (API) der Interleukine IL-4, IL-8, IL-10 und IL-12 hinsichtlich der beiden Probandengruppen (Gesunde vs. an Parodontitis erkrankte Patienten). Da bei den IL-Werten nicht von einer Normalverteilung ausgegangen werden kann, finden die Median-Werte Anwendung, nicht die arithmetischen Mittelwerte. Für den statistischen Test auf Mittelwertunterschiede (Test auf Unterschiede der mittleren Niveaus) ist nicht allein eine Differenz der Mittelwerte ausschlaggebend, es wird weiterhin die Streuung innerhalb der Probandengruppen betrachtet. Anhand der Mittelwerte und der Streuung werden sogenannte Konfidenzintervalle der Mittelwerte berechnet. Statistische Signifikanz liegt dann vor, wenn diese Konfidenzintervalle sich nicht überschneiden. Auf Grundlage derart ermittelter Ergebnisse der hier vorliegenden Stichprobe ermöglicht die statistische Signifikanz den Ausblick auf einen systematischen Effekt, der in der Grundgesamtheit (alle Patienten in der BRD bzw. alle kaukasischen Individuen) zu erwarten ist.

Je nach Skalenniveau der zu überprüfenden Variablen (Testvariablen) wurde dabei der U-Test nach Mann, Whitney und Wilcoxon (für metrisch skalierte Testvariablen) bzw. der χ^2 -Test (für nominal bzw. ordinal skalierte Testvariablen) durchgeführt. Als Gruppenvariable wurde jeweils die nominalskalierte Probandengruppe (gesunde vs. an Parodontitis erkrankte Patienten) herangezogen.

Die Variablen, die in den bivariaten Tests statistisch signifikante Unterschiede des mittleren Niveaus (hinsichtlich der Probandengruppen: Gesunde vs. Erkrankte) aufwiesen, wurden in multivariaten Analyseverfahren näher untersucht. Ziel der multivariaten Analyseverfahren ist es, ein möglichst wenige Variablen umfassendes Modell zu entwickeln, das in der Lage ist, das Vorhandensein (bzw. Nicht-Vorhandensein) von Parodontitis allein durch die Untersuchung einer Speichelprobe zu ermöglichen. Weiterhin geben die multivariaten Analysen Hinweise auf die relative Bedeutung der einzelnen untersuchten Variablen für das Gesamtmodell. Realisiert wurden die multivariaten Analysen mittels AnswerTree-Analyse, bei der der sogenannte CHAID-Algorithmus (Chisquared automatic interaction detector) verwendet wird. Die

Qualität des von AnswerTree vorgeschlagenen Modells bemisst sich am Prozentsatz der Probanden, die auf Grundlage des Modells korrekt den (bekannten) Probandengruppen (Gesunde vs. Erkrankte) zugeordnet werden können.

4 Ergebnisse

Im Folgenden werden die wichtigsten Ergebnisse der statistischen Analyse dargestellt, beginnend mit der Auswertung der Messergebnisse und der Herstellung der Standardverdünnungsreihen

4.1 Erstellen der Standardkurven

Die Auswertung der Messergebnisse erfolgte für alle Interleukin-Untersuchungen analog. Um die Konzentration des jeweiligen Interleukins IL-4, IL-8, IL-10 und IL-12 in den Proben zu berechnen, musste eine Standardkurve erstellt werden. Diese wurde mithilfe der Computerprogramme SPSS (IBM) und Excel (Microsoft) erstellt. Nach Eingabe der Standardkonzentrationen und der ermittelten optischen Dichte der Standardkonzentrationen wurde ein Mittelwert der optischen Dichte (OD) errechnet (Dar. 11, 13, 15 und 17). Die Standardkurve wurde aus den Mittelwerten der optischen Dichte und den Standardkonzentrationen mithilfe einer Gleichung Polynom 3. Ordnung erstellt (Dar. 12, 14, 16 und 18).

Standard Reihe 1	Standard Reihe 2	Mittelwert (x-Achse)	Konz [pg/ml] (y-Achse)
2,269	2,271	2,270	500
1,415	1,345	1,380	250
0,754	0,739	0,747	125
0,409	0,386	0,398	62,5
0,219	0,206	0,213	31,2
0,131	0,121	0,126	15,6
0,072	0,075	0,074	7,8
0,021	0,027	0,024	0

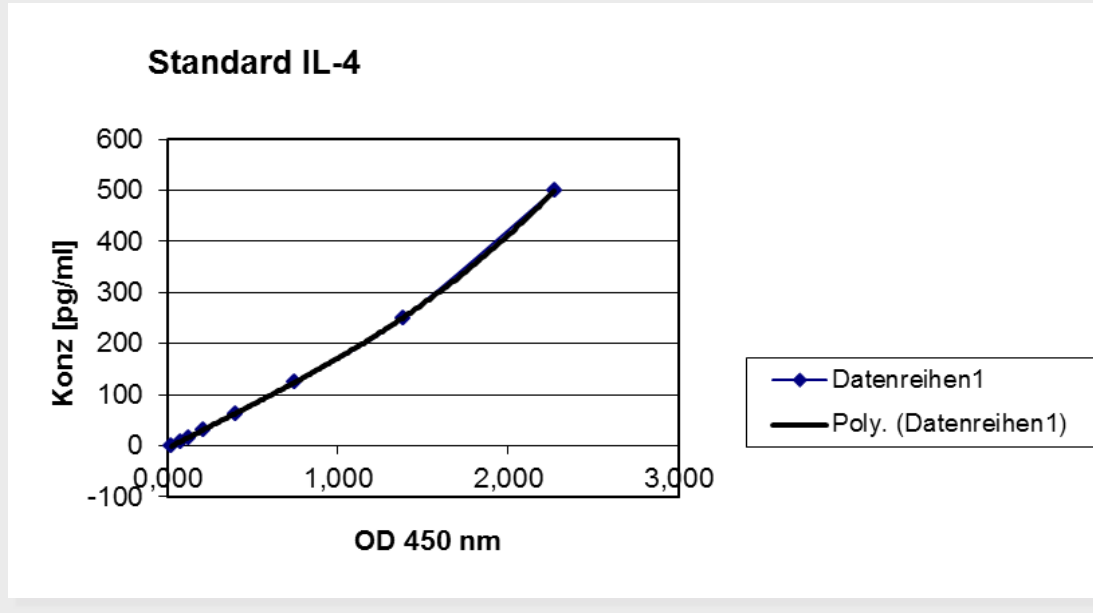
Darstellung 11

Auswertung der Messergebnisse IL-4

Ergebnisse

Die Standardkurve wurde mit folgender Gleichung errechnet:

$$y = 14,881x^3 - 12,348x^2 + 173,83 - 5,0886$$



Darstellung 12

Standardkurve für IL-4

Standard Reihe 1	Standard Reihe 2	Mittelwert (x-Achse)	Konz [pg/ml] (y-Achse)
1,084	1,106	1,095	1000
0,706	0,699	0,703	500
0,406	0,409	0,408	250
0,229	0,217	0,223	125
0,126	0,126	0,126	62,5
0,074	0,074	0,074	31,2
0,045	0,042	0,044	15,6
0,013	0,015	0,014	0

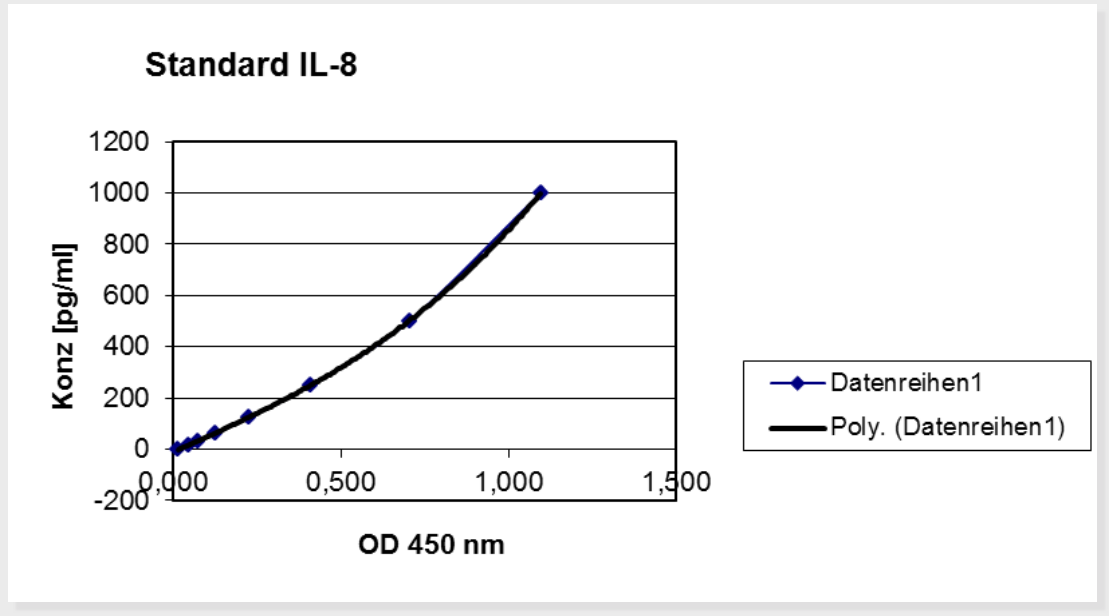
Darstellung 13

Auswertung der Messergebnisse IL-8

Ergebnisse

Die Standardkurve wurde mit folgender Gleichung errechnet:

$$y = 269,61x^3 + 12,378x^2 + 585,62x - 10,206$$



Darstellung 14

Standardkurve für IL-8

Standard Reihe 1	Standard Reihe 2	Mittelwert (x-Achse)	Konz [pg/ml] (y-Achse)
1,938	1,877	1,908	500
1,110	1,104	1,107	250
0,610	0,608	0,609	125
0,338	0,333	0,336	62,5
0,209	0,191	0,200	31,2
0,134	0,127	0,131	15,6
0,093	0,083	0,088	7,8
0,043	0,045	0,044	0

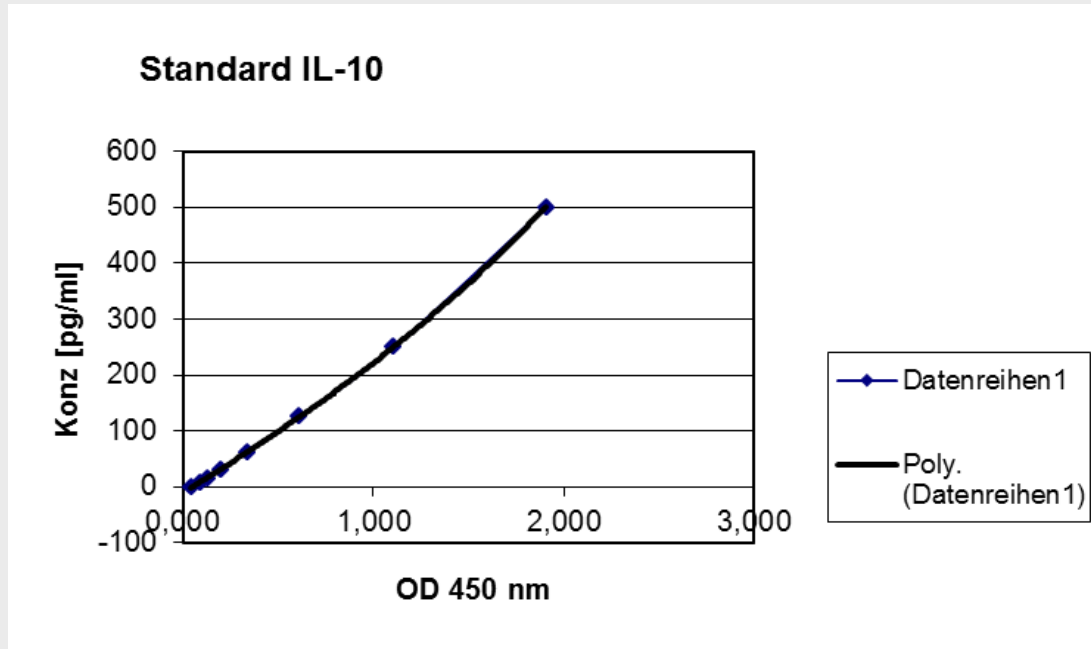
Darstellung 15

Auswertung der Messergebnisse IL-10

Ergebnisse

Die Standardkurve wurde mit folgender Gleichung errechnet:

$$y = 9,4139x^3 + 11,493x^2 + 211,59x - 10,794$$



Darstellung 16

Standardkurve für IL-10

Standard Reihe 1	Standard Reihe 2	Mittelwert (x-Achse)	Konz [pg/ml] (y-Achse)
1,904	1,863	1,884	500
1,113	1,077	1,095	250
0,595	0,585	0,590	125
0,299	0,300	0,300	62,5
0,170	0,169	0,170	31,2
0,102	0,098	0,100	15,6
0,066	0,062	0,064	7,8
0,025	0,027	0,026	0

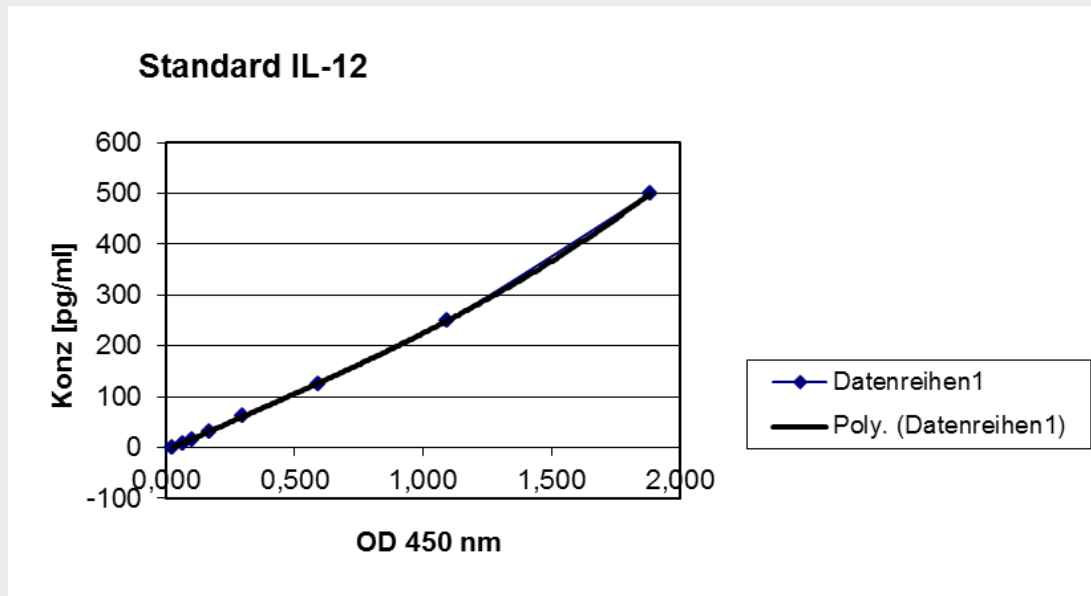
Darstellung 17

Auswertung der Messergebnisse IL-12

Ergebnisse

Die Standardkurve wurde mit folgender Gleichung errechnet:

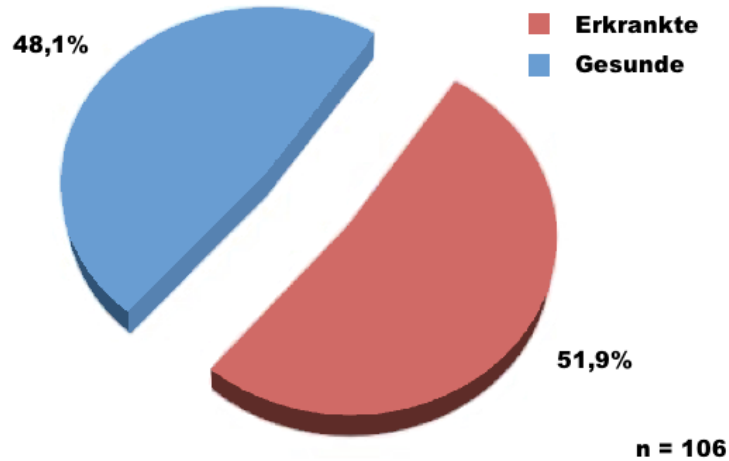
$$y = 20,026x^3 - 15,233x^2 + 226,49x - 6,3267$$



Darstellung 18

Standardkurve für IL-12

4.2 Stichprobe: Erkrankte vs. Gesunde

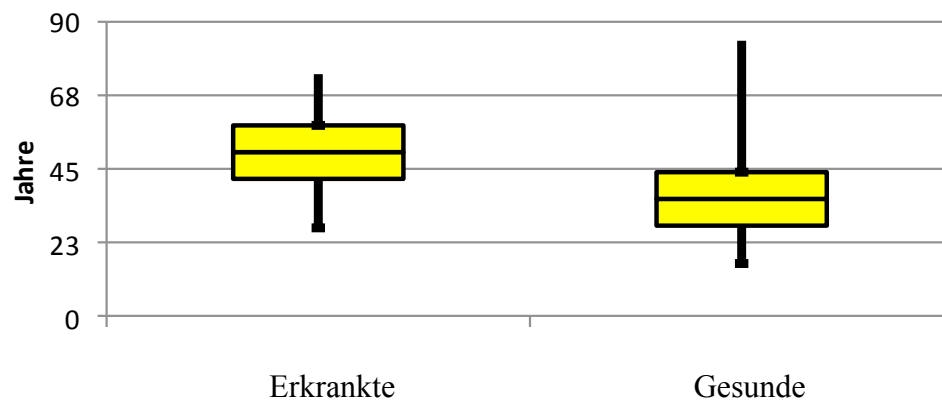


Darstellung 19 Erkrankte vs. Gesunde

Alle ausgewerteten Daten ergeben sich aus der Untersuchung der Speichelproben von 106 Probanden. Die Gruppe der Erkrankten (Patienten) umfasst 51 Probanden, die der Gesunden (Kontrollgruppe) 55 (Dar. 19). Beide Gruppen entsprechen den definierten Ein- und Ausschlusskriterien.

4.3 Alter

Das Alter der Probanden bewegt sich zwischen 27 und 74 Jahren bei den Erkrankten und zwischen 16 und 84 Jahren bei der Kontrollgruppe der Gesunden. Das mittlere Alter (Median) der Erkrankten beträgt 50 Jahre, das der gesunden Probanden 36 Jahre.



Darstellung 20 Alter der Probanden

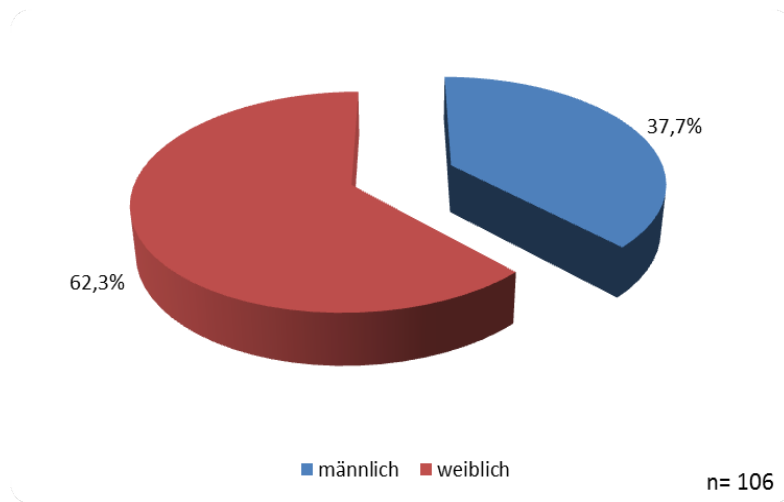
Bei der Betrachtung der Medianwerte und der Verteilung wird ersichtlich, dass das Alter der Erkrankten signifikant höher ist verglichen mit dem Alter der gesunden Probanden. Die Probanden der Gruppe der Erkrankten sind im Mittel (Median) statistisch signifikant älter (Median: 50 Jahre) als die Probanden der Gruppe der Gesunden (Median: 36 Jahre) (Dar. 21). Die Streubreite beider Gruppen ist vergleichbar (Dar. 20).

	Minimum	Maximum	Perzentil 25	Perzentil 50	Perzentil 75
Erkrankte	27	74	42	50	58
Gesunde	16	84	28	36	44

Darstellung 21 Altersverteilung der Probanden

4.4 Geschlechterverteilung

Hinsichtlich ihrer Geschlechtszugehörigkeit ergibt sich bei der gesamten Studienpopulation eine Verteilung von rund zwei Drittel weiblicher Probanden zu rund einem Drittel männlicher Probanden.



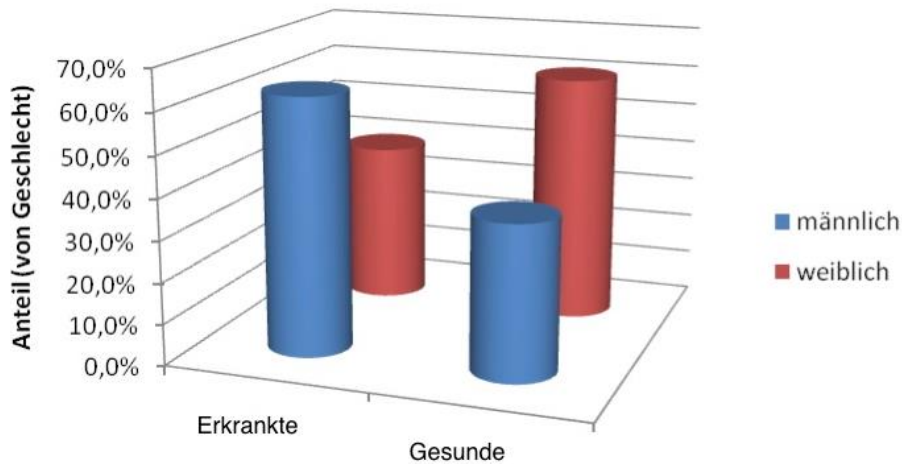
Darstellung 22

Geschlechterverteilung des gesamten Studienkollektivs

Während sich die Studiengruppe der Erkrankten aus nahezu gleichen Anteilen an männlichen (49,0 %) und weiblichen Probanden (51,0 %) zusammensetzt, überwiegen in der Kontrollgruppe die weiblichen Probanden deutlich (27,3 % vs. 72,7 %) (Dar. 23).

Ergebnisse

Die bivariate Analyse dieser Daten zeigt einen wesentlichen Unterschied hinsichtlich der Erkrankungsstatistik beider Geschlechter auf (Dar. 23). Mit rund 63 % ist der Anteil von Männern mit positivem Parodontitis-Befund statistisch signifikant höher als der Anteil der Frauen, die einen positiven Parodontitis-Befund (39 %) aufweisen (Dar. 23).

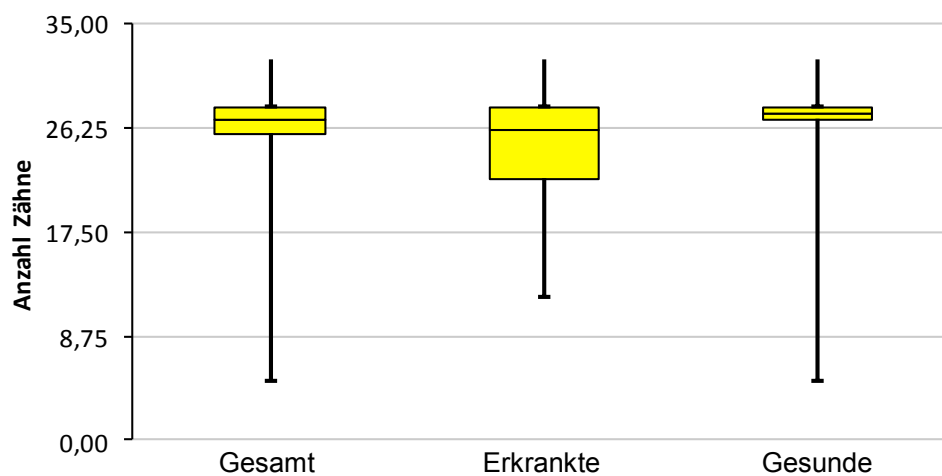


Darstellung 23

Parodontitis nach Geschlecht

4.5 Anzahl der Zähne

Der Vergleich beider Probandengruppen hinsichtlich der Anzahl der Zähne ergibt bei beiden Gruppen ähnliche Ergebnisse (Dar. 24). Im Durchschnitt (Median) beträgt die Anzahl der vorhandenen Zähne bei den Erkrankten 26, in der Gruppe der Gesunden sind es 27,5 Zähne pro Proband (Dar. 25). Ein wesentlicher Unterschied besteht in der Streubreite beider Gruppen, die bei den Erkrankten größer ist (Dar. 24).



Darstellung 24 Analyse der Anzahl der Zähne

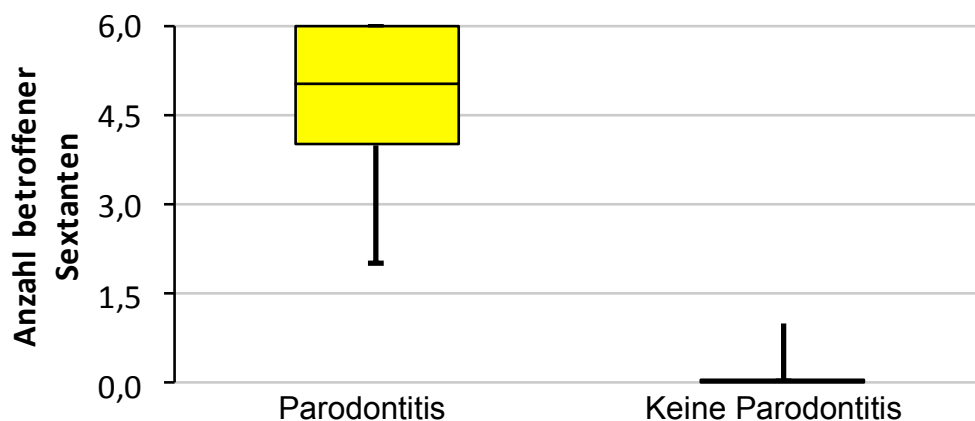
	Minimum	Maximum	Perzentil 25	Perzentil 50	Perzentil 75
Erkrankte	12	32	22	26	28
Gesunde	5	32	27	28	28

Darstellung 25 Verteilung der Zahnanzahl

4.6 Parodontaler Screening Index (PSI)

Erhebung und Auswertung der im Nachfolgenden aufgeführten Daten erfolgten vorwiegend mit dem Ziel, den parodontalen Gesundheitsstatus beider Probandengruppen statistisch zu belegen. Daten des Parodontalen Screening Index (PSI), des Sulkus-Blutungs-Index (SBI) und der Anzahl der betroffenen Zähne (Taschensondierungstiefe $>3,5$ mm) belegen sowohl den Erkrankungszustand der erkrankten Probanden als auch das Ausbleiben entsprechender Symptome bei der gesunden Kontrollgruppe (Dar. 26).

Die Auswertung der durch den Parodontalen Screening Index erhobenen Daten zeigt, dass durchschnittlich (Median) 5 Sextanten pro Patient betroffen sind (Dar. 27).



Darstellung 26

Analyse der parodontal betroffenen Sextanten nach PSI

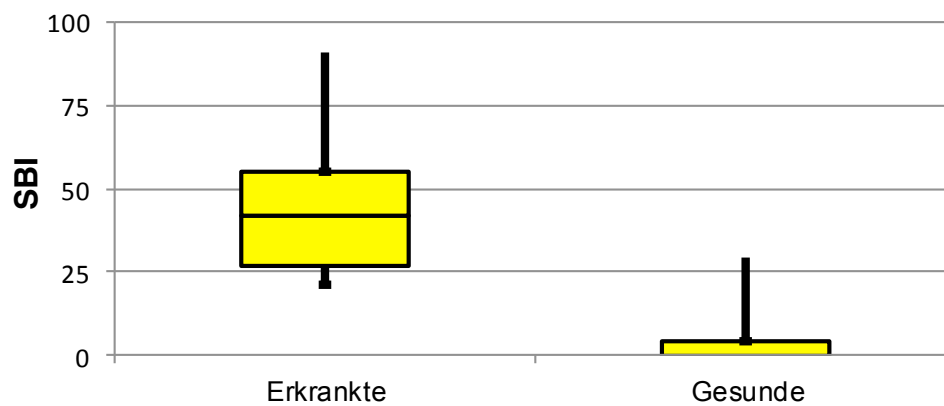
	Minimum	Maximum	Perzentil 25	Perzentil 50	Perzentil 75
Erkrankte	2	6	4	5	6
Gesunde	0	1	0	0	0

Darstellung 27

Verteilung parodontal erkrankter Sextanten

4.7 Sulkus Blutungs-Index (SBI)

Auch die Analyse der Sulkus-Blutungs-Indices beider Probandengruppen weist, wie es zu erwarten war, im direkten Vergleich einen statistisch großen Unterschied auf (Dar. 28). In der Gruppe der Erkrankten liegt der Median der SBI-Werte mit einer Ausprägung von 42 % weit oberhalb der SBI-Werte der Gesunden (Median: 0 %) (Dar. 29).



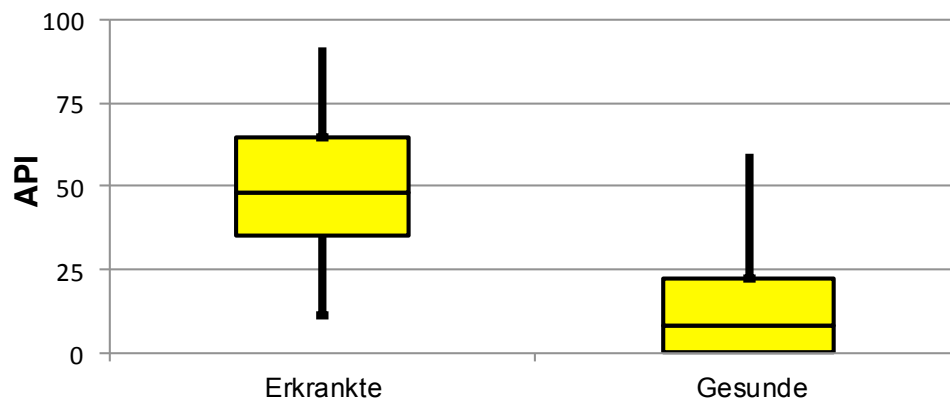
Darstellung 28 Analyse des Sulkus-Blutungs-Index

	Minimum	Maximum	Perzentil 25	Perzentil 50	Perzentil 75
Erkrankte	21	91	27	42	55
Gesunde	0	29	0	0	4

Darstellung 29 Verteilung der Werte des Sulkus-Blutungs-Index

4.8 Approximalraum-Plaque-Index (API)

Die bivariate Analyse des Approximalraum-Plaque-Index (API) offenbart einen beachtlichen Unterschied zwischen den beiden Probandengruppen und damit eine deutlich schlechtere Mundhygiene bei den parodontal Erkrankten. In der Gruppe der Erkrankten liegt der Median der API-Werte mit einer Ausprägung von 48 % statistisch weit höher als die mittlere Ausprägung innerhalb der Gruppe der Gesunden (Median: 8 %).



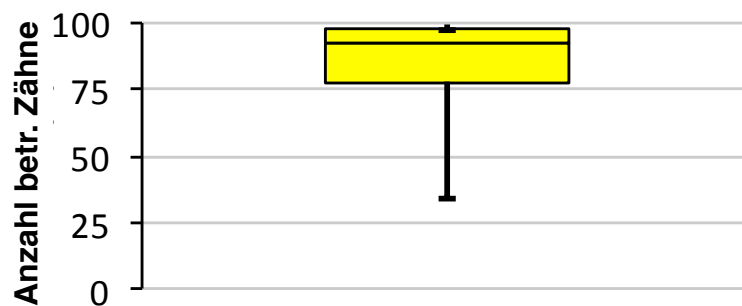
Darstellung 30 Analyse des Approximalraum-Plaque-Index

	Minimum	Maximum	Perzentil 25	Perzentil 50	Perzentil 75
Erkrankte	11	92	35	48	65
Gesunde	0	60	0	8	22

Darstellung 31 Verteilung der Werte des Approximalraum-Plaque-Index

4.9 Anzahl betroffener Zähne bei Erkrankten

Durchschnittlich (Median) beträgt die Prozentzahl betroffener Zähne pro Erkranktem rund 92 % (Dar. 32). Das bedeutet, dass rund 92 % der Zähne eines durchschnittlichen Erkrankten eine Taschensondierungstiefe von mehr als 3,5 mm aufweisen und somit von Parodontitis betroffen sind (Dar. 33).



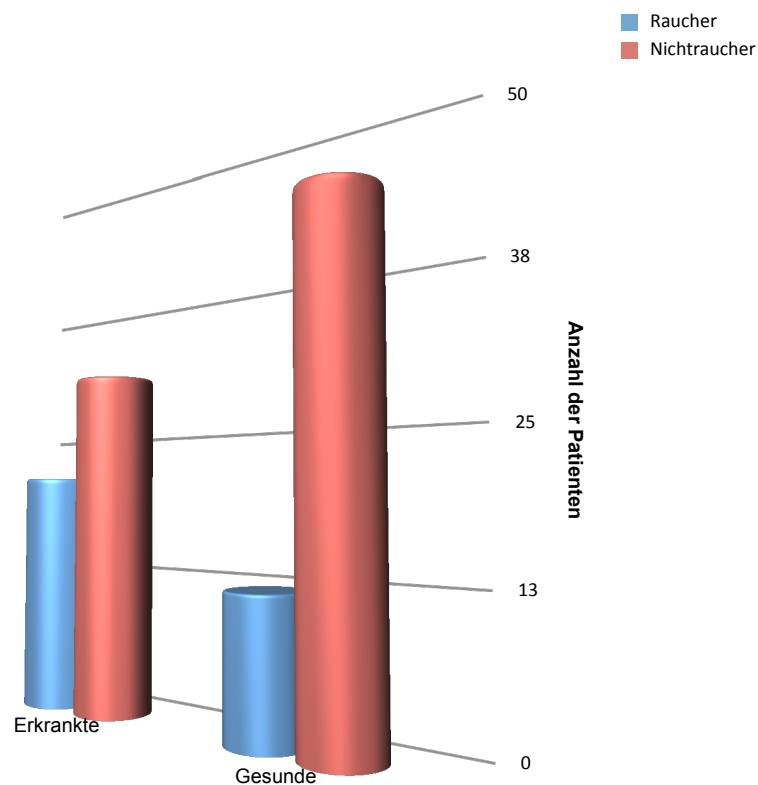
Darstellung 32 Anzahl betroffener Zähne (erkrankte Probanden)

	Minimum	Maximum	Perzentil 25	Perzentil 50	Perzentil 75
Erkrankte	33,3	100	77,7	92,8	100
Gesunde	0	0	0	0	0

Darstellung 33 Verteilung der betroffenen Zähne

4.10 Tabakkonsum

Rund ein Drittel des gesamten Kollektivs ist den Rauchern zuzurechnen (31,3 %). Die bivariate Analyse ergibt hinsichtlich der Häufigkeit der Erkrankung statistisch signifikante Unterschiede. Unter den Rauchern tritt Parodontitis mit 63,6 % statistisch signifikant häufiger auf, als dies unter Nichtrauchern der Fall ist (41,1 %) (Dar. 34).



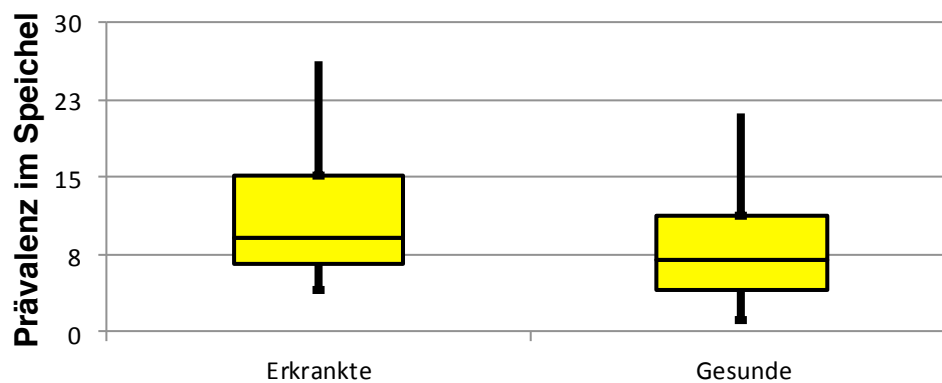
Darstellung 34 Parodontitis und Tabakkonsum

	Raucher	Nichtraucher
Erkrankte	21	30
Gesunde	12	43

Darstellung 35 Parodontitis und Tabakkonsum - Anzahl der Probanden innerhalb der Gruppen

4.11 Interleukin-4 (IL-4)

Die bivariate Betrachtung der Interleukin-4-Konzentration im Speichel zeigt, dass hinsichtlich der Symptomatik der Parodontitis ein signifikanter Unterschied vorliegt (Dar. 36). In der Studiengruppe der Erkrankten lag der mittlere IL-4-Wert (Median) mit einer Ausprägung von 9,2 statistisch signifikant über dem mittleren IL-4-Wert der Gesunden (6,9) (Dar. 37).



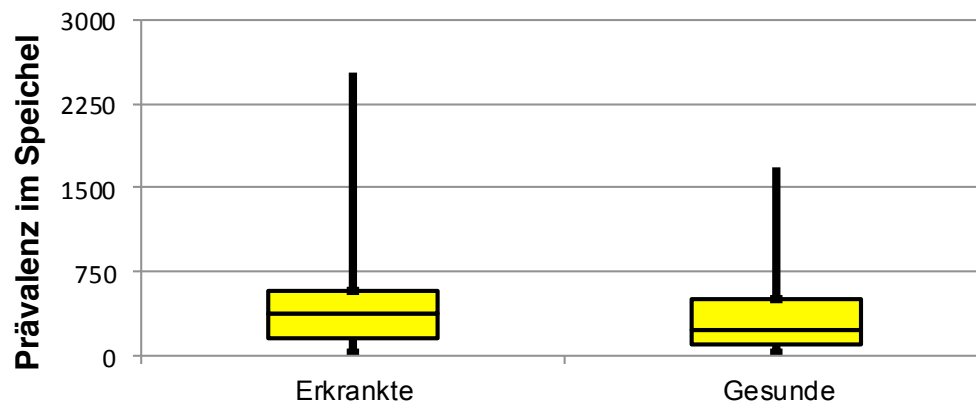
Darstellung 36 Bivariate Analyse des Interleukin-4

	Minimum	Maximum	Perzentil 25	Perzentil 50	Perzentil 75
Erkrankte	4,1	26,3	6,6	9,2	15,1
Gesunde	1,1	21,2	4	6,9	11,2

Darstellung 37 Statistische Verteilung des IL-4

4.12 Interleukin-8 (IL-8)

Die bivariate Betrachtung der Interleukin-8-Konzentration im Speichel ergab keinen statistisch signifikanten Unterschied (Dar. 38).



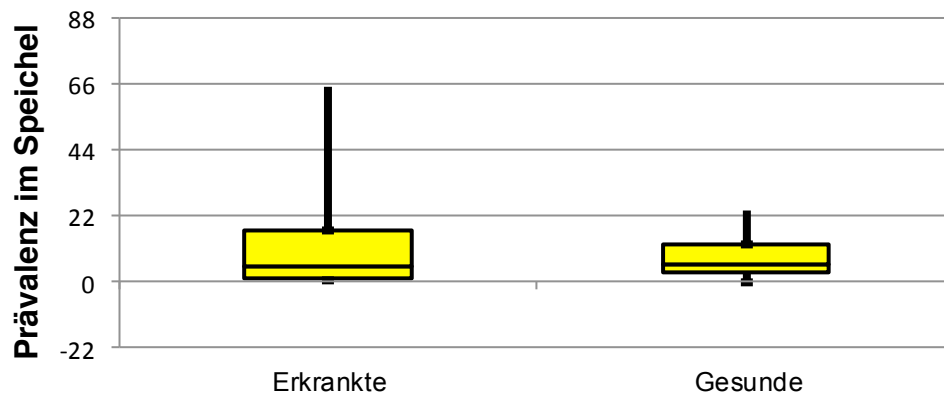
Darstellung 38 Bivariate Analyse des Interleukin-8

	Minimum	Maximum	Perzentil 25	Perzentil 50	Perzentil 75
Erkrankte	26	2535	145	373	582
Gesunde	21	1691	92	6,9	495

Darstellung 39 Statistische Verteilung des IL-8

4.13 Interleukin-10 (IL-10)

Die bivariate Betrachtung der Interleukin-10-Konzentration im Speichel ergab keinen statistisch signifikanten Unterschied.



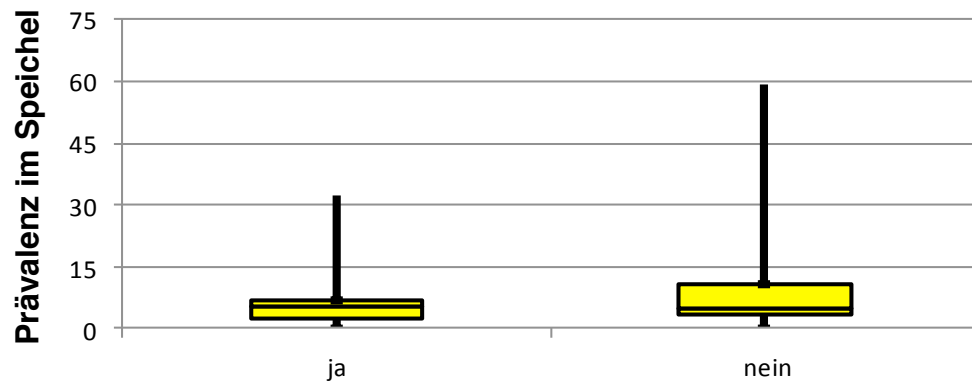
Darstellung 40 Bivariate Analyse des Interleukin-10

	Minimum	Maximum	Perzentil 25	Perzentil 50	Perzentil 75
Erkrankte	0,2	64,8	1,1	5,1	16,9
Gesunde	-2,7	21	0,6	3	9,8

Darstellung 41 Statistische Verteilung des IL-10

4.14 Interleukin-12 (IL-12)

Die bivariate Betrachtung der Interleukin-12-Konzentration im Speichel ergab keinen statistisch signifikanten Unterschied.



Darstellung 42 Bivariate Analyse des Interleukin-12

	Minimum	Maximum	Perzentil 25	Perzentil 50	Perzentil 75
Erkrankte	0	32,4	2,6	5,5	7
Gesunde	0	59,1	3,2	5	10,9

Darstellung 43 Statistische Verteilung des IL-12

4.15 Korrelation zwischen Geschlecht und Prävalenz der Interleukine im Speichel

Die bivariate Untersuchung der Korrelation zwischen Geschlecht und Prävalenz der Interleukine im Speichel hat keinen statistisch signifikanten Zusammenhang ergeben.

4.16 Korrelation zwischen Alter und Prävalenz der Interleukine im Speichel

Die bivariate Untersuchung der Korrelation zwischen Alter der Probanden und Prävalenz der Interleukine im Speichel hat keinen statistisch signifikanten Zusammenhang ergeben.

4.17 Korrelation zwischen Tabakkonsum und Prävalenz der Interleukine im Speichel

Die bivariate Untersuchung der Korrelation zwischen Tabakkonsum der Probanden und Prävalenz der Interleukine im Speichel hat keinen statistisch signifikanten Zusammenhang ergeben.

4.18 Multivariate Analyse

Aufbauend auf die bislang ermittelten Ergebnisse werden im Folgenden bivariate Zusammenhänge als Vorhersagemodell betrachtet. Die prozentuale Anzahl richtig klassifizierter Probanden wird dabei als Maß für die Qualität der unterschiedlichen Modelle herangezogen. „Prozent richtig klassifizierter Probanden“ bedeutet den Anteil der Probanden, die aufgrund des jeweiligen Modells richtig in die Gruppen der Erkrankten bzw. der Gesunden eingeordnet werden können.

Das Grundmodell bildet ein Erklärungsmodell, das ausschließlich das bivariate signifikante IL-4 enthält. Benutzt wird hierzu der CHAID-Algorithmus (Chisquared automatic interaction detector).

Klassifikation			
Beobachtet	Vorhergesagt		
	1 ja	2 nein	Prozent korrekt
1 ja	51	0	100,0 %
2 nein	44	11	20,0 %
Gesamtprozentsatz	89,6 %	10,4 %	58,5 %
Aufbaumethode: CHAID Abhängige Variable: PA ja/nein Unabhängige Variable: IL-4			

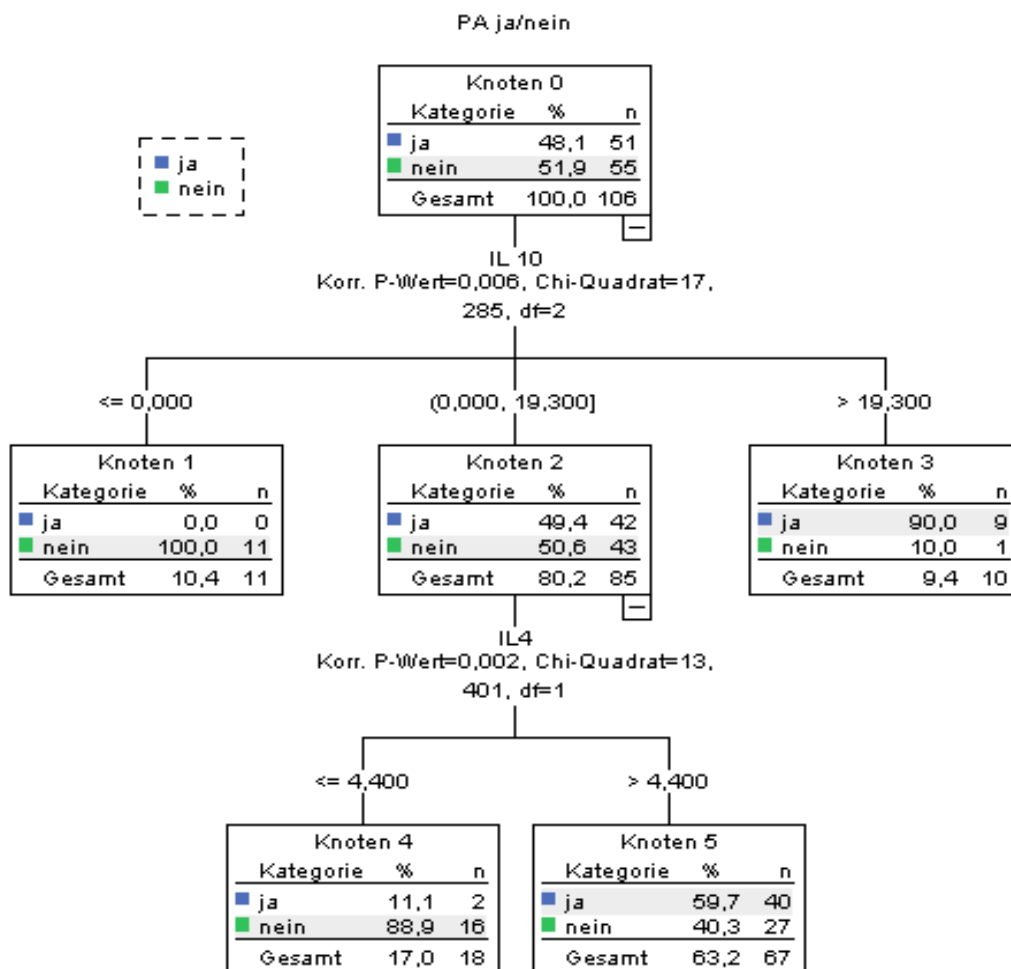
Darstellung 44 Klassifikationsübersicht des Grundmodells (IL-4 auf PA-Gruppen)

Anhand der IL-4-Konzentration im Speichel können 58,5 % der Probanden richtig in die Gruppen der Erkrankten und der Gesunden eingeordnet werden (vgl. Tabelle). In einem weiteren Schritt werden zusätzlich zur IL-4-Konzentration im Speichel weitere Variablen betrachtet mit dem Ziel, ein Modell zu entwickeln, das eine möglichst gute

Vorhersage der Zugehörigkeit zu den Probandengruppen ermöglicht. Das erste zu überprüfende Modell soll dabei ausschließlich die vier erhobenen Interleukin-Variablen enthalten. Ein zweites Modell wird neben den Interleukin-Variablen auch die Variablen Alter, Geschlecht und Raucher (ja/nein) enthalten. Die Qualität jedes der noch zu entwickelnden Modelle muss sich am Anteil richtig klassifizierter Probanden des Grundmodells messen lassen. Ein Modell ist dann als brauchbar einzustufen, wenn es die Vorhersagekraft des Grundmodells übertrifft.

4.18.1 Test-Modell 1: IL-4, IL-8, IL-10 und IL-12

Die vier Interleukin-Variablen (IL-4, IL-8, IL-10 und IL-12) wurden in ein CHAID-Modell einbezogen. Dabei wurden die Variablen IL-4 und IL-10 als wichtigste Einflussgrößen unter den vier Interleukin -Variablen identifiziert. Die Variablen IL-8 und IL-12 tragen nicht zur weiteren Aufklärung der Gruppenzugehörigkeit (Erkrankte/ Gesunde) bei und werden daher nicht in das endgültige Modell aufgenommen.



Darstellung 45

Vorhersagemodell der Variablen IL-10 und IL-4 auf die Gruppe der Erkrankten (PA ja) und der Gesunden (PA nein)

Ergebnisse

Die Qualität der Vorhersage dieses Modells wird anhand der Klassifikationsübersicht bemessen (vgl. Tabelle) und mit dem Grundmodell verglichen.

Klassifikation			
Beobachtet	Vorhergesagt		
	1 Erkrankte	2 Gesunde	Prozent korrekt
1 Erkrankte	49	2	96,1 %
2 Gesunde	28	27	49,1 %
Gesamtprozensatz	72,6 %	27,4 %	71,7 %
Aufbaumethode: CHAID Abhängige Variable: PA Erkrankte/Gesunde			

Darstellung 46 Klassifikationsübersicht des Test-Modells (IL-10, IL-4 auf Probandengruppen)

Das Vorhersagemodell mit IL-10 und IL-4 ermöglicht es, 71,7 % der Probanden richtig in die Gruppe der an Parodontitis Erkrankten bzw. der Gesunden einzuordnen. Gegenüber dem Grundmodell ist hier also eine deutlich verbesserte Vorhersage möglich.

4.18.2 Test-Modell 2: IL-4, IL-8, IL-10, IL-12 – Alter, Raucher und Geschlecht

Dieses Modell stellt eine Erweiterung des zuvor berechneten Modells dar. Zusätzlich zu den Variablen IL-4- und IL-10-Konzentration im Speichel werden die Variablen Alter, Raucher und Geschlecht in die Analyse aufgenommen.

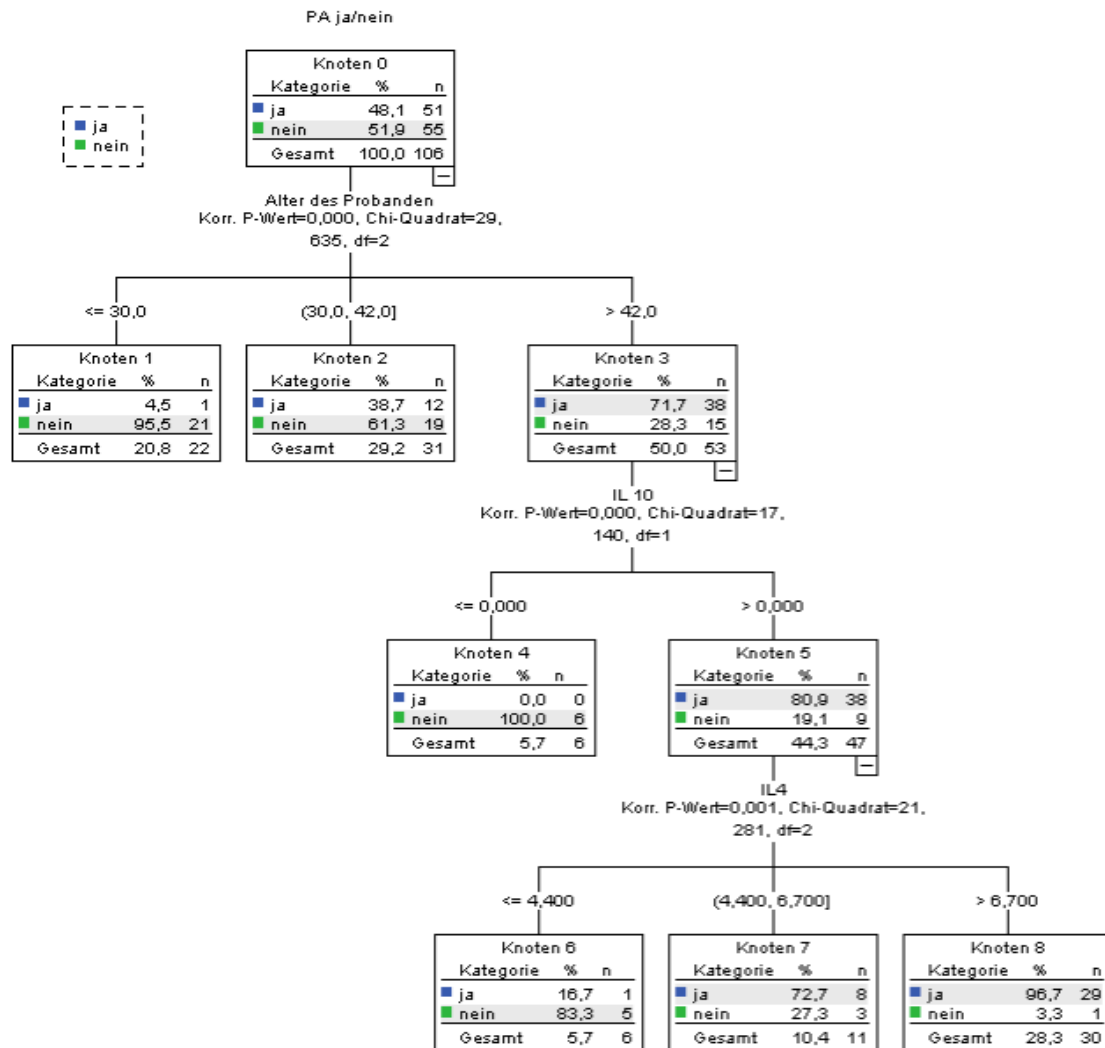
Der CHAID-Algorithmus identifiziert die Variablen Alter, IL-10 und IL-4 als die Variablen mit dem höchsten Erklärungsgrad. Die Variablen Raucher, Geschlecht, IL-8 und IL-12 werden nicht in das Modell einbezogen. Insgesamt können anhand des Test-Modells 83 % der Probanden richtig in die Gruppen der Erkrankten (PA ja) und der Gesunden (PA nein) eingeordnet werden (vgl. Tabelle). Die Erklärungskraft des Grundmodells und auch des Modells, das ausschließlich Interleukin-Variablen enthält, wird deutlich übertroffen.

Klassifikation			
Beobachtet	Vorhergesagt		
	1 Erkrankte	2 Gesunde	Prozent korrekt
1 Erkrankte	37	14	72,5 %
2 Gesunde	4	51	92,7 %
Gesamtprozentsatz	38,7 %	61,3 %	83,0 %
Aufbaumethode: CHAID Abhängige Variable: PA Erkrankte/Gesunde			

Darstellung 47

Klassifikationsübersicht des Test-Modells 2 (Alter, IL-10, IL-4 auf PA Gruppen)

Ergebnisse



Darstellung 48

Vorhersagemodell der Variablen Alter, IL-10 und IL-4 auf die Gruppen PA ja und PA nein

Die Ergebnisse dieses Erklärungsmodells im Einzelnen:

- Probanden im Alter kleiner/gleich 30 Jahre werden mit einer Wahrscheinlichkeit von 95,5 % in die Gruppe der Gesunden (PA nein) eingeordnet.
- Probanden im Alter zwischen größer 30 und kleiner 42 werden mit einer Wahrscheinlichkeit von 61,3 % in die Gruppe der Gesunden (PA nein) eingeordnet.
- Probanden im Alter größer 42 und mit einem IL-10-Wert kleiner/gleich 0 werden mit einer Wahrscheinlichkeit von 100 % in die Gruppe der Gesunden (PA nein) eingeordnet.
- Probanden im Alter größer 42 und mit einem IL-10-Wert größer 0 und einem IL-4-Wert kleiner/gleich 4,4 werden mit einer Wahrscheinlichkeit von 83,3 % in die Gruppe der Gesunden (PA nein) eingeordnet
- Probanden im Alter größer 42 und mit einem IL-10-Wert größer 0 und einem IL-4-Wert zwischen größer 4,4 und kleiner 6,7 werden mit einer Wahrscheinlichkeit von 72,7 % in die Gruppe der Erkrankten (PA ja) eingeordnet
- Probanden im Alter größer 42 und mit einem IL-10-Wert größer 0 und einem IL-4-Wert größer 6,7 werden mit einer Wahrscheinlichkeit von 96,7 % in die Gruppe der Erkrankten (PA ja) eingeordnet.

5 Diskussion

Da immunologische Vorgänge bei Parodontitiden einen komplexen Ablauf aufweisen, erfordert die Erforschung dieser Zusammenhänge die Betrachtung weiterer, insbesondere epidemiologischer Daten. Aus diesem Grund wurden neben der Prävalenz der Interleukine IL-4, IL-8, IL-10 und IL-12 im Speichel epidemiologische Daten wie Geschlecht, Alter, Anzahl der betroffenen Zähne, Tabakkonsum etc. erhoben. Dies erfolgte mit der Absicht, Erkenntnisse über die Wechselwirkung endogener und exogener Faktoren sowie deren Zusammenspiel mit der Prävalenz der genannten Interleukine im Speichel zu gewinnen. In diesem Zusammenhang hat die Betrachtung epidemiologischer Daten eine besondere Bedeutung, ungeachtet der Tatsache, dass vergleichende Betrachtungen mit Ergebnissen bisheriger Studien nur eingeschränkt möglich sind. Diese Einschränkung ist Diskrepanzen geschuldet, die sowohl bei Diagnostik als auch bei Definition der Parodontitis bestehen. So ist bei einer hohen Anzahl Erwachsener, ja sogar junger Erwachsener, mindestens eine Sondierungsstelle mit einem Attachmentverlust von mehr als 2 mm nachzuweisen (NHANES III, 1997). Der Zustand vollkommen gesunder Parodontien bei einem einzelnen Individuum ist daher verhältnismäßig selten anzutreffen. Es stellt sich folglich die Frage, ab welchem Ausmaß des Attachmentverlusts eine Parodontitis vorliegt. Eine einheitliche Definition dieser Erkrankung oder eine allgemeingültige Festlegung ihrer Schweregrade existiert nicht (Albandar 2007; Page et al. 2007; Savage, Eaton et al. 2009), sodass unterschiedliche Definitionen, unterschiedliche Betrachtungsweisen der Schweregrade, die Verwendung unterschiedlicher Indices sowie die unterschiedliche Bewertung klinischer und epidemiologischer Aspekte zu stark differierenden Ergebnissen epidemiologischer Studien führen (Diamanti-Kipioti, Papapanou et al. 1993; Holm et al. 1998). Eine objektive Beurteilung und Vergleichbarkeit dieser Studien ist somit nur begrenzt möglich. Zudem besteht Uneinigkeit sowohl bei der Beurteilung der messbaren Progression dieser Erkrankung als auch hinsichtlich der Toleranz bei der Reproduzierbarkeit der Messungen der Taschensondierungstiefe. Nach Ansicht von Jeffcoat et al. ist die Messung der Taschensondierungstiefe mit einer Genauigkeit von 90 % reproduzierbar (Jeffcoat et al. 2000), sodass diese Form der Diagnostik von einem Großteil der Anwender als ausreichend präzises Verfahren betrachtet wird.

Jedoch beträgt die Standardabweichung des Attachmentverlusts bei wiederholter Messung laut Haffajee et Socransky 0,8 mm (Haffajee et Socransky 1986). Somit muss die Veränderung des Attachmentverlusts mindestens das Zwei- bis Dreifache der Standardabweichung betragen, damit das Vorliegen eines Messfehlers nicht zu einer drastischen Verfälschung der Messwerte führt (Haffajee, Socransky et al. 1985; Lindhe, Haffajee et al. 1983). Dieser Umstand erklärt, wie es zu der weit verbreiteten Betrachtungsweise kommen konnte, bei der das Vorliegen einer Parodontitis erst bei einem Attachmentverlust von mehr als 2 bis 3 mm definiert wird. Dieser Wert steht jedoch im Gegensatz zur Aussage zahlreicher Autoren, die bereits das Vorliegen geringerer Sondierungstiefen als unphysiologischen Zustand betrachten. Auch hinsichtlich einer Verlaufskontrolle der Parodontitis zeigt sich somit, dass lediglich Veränderungen von mehr als 2,4 mm (das Dreifache der Standardabweichung) mittels Messung der Taschensondierungstiefe valide erfasst werden können. Neben dem Umstand, dass die Messung der Taschensondierungstiefe ohnehin lediglich den zurückliegenden Verlust parodontaler Strukturen zu dokumentieren vermag und somit nur den Blick in die Vergangenheit des entzündlichen Geschehens erlaubt, ist dies ein weiterer Hinweis auf die ungenügende Eignung dieses Verfahrens zur Verlaufskontrolle der Parodontitis.

In der vorliegenden Untersuchung wurde für Erkrankte ein Schwellenwert von 3,5 mm zugrunde gelegt. Dies geschah unter der Betrachtung, dass geringere Taschensondierungstiefen häufig Folge einer Gingivitis und somit reversibel sein können, sofern die Zahnfleischtasche durch die Schwellung einer Entzündung verursacht wurde. Damit sollte ausgeschlossen werden, dass sogenannte Pseudotaschen als Symptom einer Parodontitis fehlinterpretiert werden. Für Gesunde hingegen wurde eine maximale Taschensondierungstiefe von 2 mm toleriert, da Individuen mit vollkommen gesunden Parodontien ohne messbare Taschensondierungstiefen besonders selten anzutreffen sind. Mit steigendem Alter nimmt die Häufigkeit parodontaler Schäden zu (Papapanou, Lindhe et al. 1991). Dies wirft die Frage auf, ob eine gewisse Taschensondierungstiefe als „Alterserscheinung“ zu tolerieren ist. Auch hierzu besteht bislang kein Konsens. Die Zuordnung einer Taschensondierungstiefe von maximal

2 mm bei Gesunden und mindestens 3,5 mm bei erkrankten Probanden ermöglichte in der hier vorgelegten Untersuchung eine besonders deutliche Trennung beider Studienpopulationen. Sie erfolgte mit dem Ziel, Überschneidungen zwischen Erkrankten und Gesunden zu vermeiden.

Die beiden Studiengruppen der Erkrankten und der Gesunden weisen eine annähernd gleich große Teilnehmerzahl auf, die Geschlechterverteilung hingegen ist unterschiedlich. Erwartungsgemäß sind im untersuchten Gesamtkollektiv männliche Probanden häufiger von Parodontitis betroffen als Frauen. Das Kollektiv männlicher Probanden weist einen Anteil von rund 63 % an erkrankten Individuen auf, während im weiblichen Kollektiv nur 39 % Erkrankte festzustellen sind. Dieses Ergebnis entspricht zahlreichen Publikationen, die belegen konnten, dass die Prävalenz der Parodontitis bei Männern größer ist (NHANES III 1997; Albandar, Brown et al. 1997; Micheelis et Schiffner 2005; Ziebolz, Schwerdtfeger et al. 2008; Brothwell, Ghiabi et al. 2009; Holtfreter, Schwahn et al. 2009; Torrungruang, Bandhaya et al. 2009; Shiao et Reynolds 2010 (1); Jordan, Lucaciu et al. 2011; Wasterlain, Cunha et al. 2011). Während bei den meisten betroffenen Männern parodontale Destruktionen vorwiegend in der Mitte der dritten Lebensdekade auftreten, ist dies bei Frauen erst in der Mitte der vierten Lebensdekade zu beobachten (Heidemann 2005). Auch sind schwere Formen der Erkrankung beim männlichen Geschlecht häufiger anzutreffen als bei Frauen (Ziebolz, Schwerdtfeger et al. 2008; Elamin, Skaug et al. 2010; Jordan Lucaciu et al. 2011; Wasterlain, Cunha et al. 2011). Zwar ist der Geschlechterunterschied offensichtlich, die zugrunde liegenden Mechanismen sind jedoch noch nicht verstanden. Als Ursache der geringeren Prävalenz bei Frauen werden eine vermutlich bessere Mundhygiene (Jordan Lucaciu et al. 2011), eine effektivere Immunantwort (Shiao et Reynolds 2010 (2)) sowie der Einfluss des Geschlechtshormons Östrogen diskutiert (Shiao et Reynolds 2010 (2)). Es gibt Hinweise darauf, dass bestimmte Geschlechtshormone eine protektive Wirkung im Hinblick auf eine Erkrankung an Parodontitis entfalten. So konnte nachgewiesen werden, dass Frauen, bei denen nach Eintritt der Menopause eine Hormonsubstitution durchgeführt wurde, eine weitaus geringere Neigung zu Gingivitis aufwiesen als solche, bei denen diese Art der Therapie ausblieb (Haas, Rösing et al. 2009). Widersprüchlich

erscheint in diesem Zusammenhang jedoch, dass bei Frauen, trotz der vermutlich besseren Abwehrlage und der vermuteten protektiven Wirkung bestimmter Geschlechtshormone, häufig eine menstruationszyklusassoziierte Gingivitis sowie eine sogenannte Schwangerschafts-Gingivitis zu beobachten ist. Ursache und zugrunde liegende Mechanismen dieser Vorgänge sind bislang ebenfalls unbekannt.

Unabhängig vom Geschlecht steigt mit zunehmendem Alter das Risiko, an einer Parodontitis zu erkranken, sodass mit Beginn der vierten Lebensdekade das Risiko, einen Zahn durch Parodontitis zu verlieren, deutlich höher einzustufen ist, als einen Zahnverlust durch Karies zu erleiden (Micheelis et Schiffner 2005). In Übereinstimmung mit dem Ergebnis zahlreicher Studien konnte in der vorliegenden Untersuchung die Korrelation zwischen Alter und Prävalenz der Parodontitis belegt werden. Das Kollektiv der Erkrankten erweist sich statistisch um etwa 14 Jahre älter als die Kontrollgruppe der Gesunden. Dies wird von den Ergebnissen zahlreicher groß angelegter Studien gestützt (NHANES III 1997; Micheelis et Schiffner 2005; Brothwell, Ghiabi et al. 2009; Holtfreter, Schwahn et al. 2009; Torrungruang, Bandhaya et al. 2009; Jordan, Lucaciu et al. 2011).

Um einen häufig angebrachten Kritikpunkt bei derartigen Studien zu vermeiden, wurden in der hier vorgelegten Studie bei jedem Probanden sämtliche Zähne untersucht. Damit kann eine Unterschätzung der Prävalenz parodontal geschädigter Zähne ausgeschlossen werden. Die Messung der Taschensondierungstiefe erfolgte an zwei Messpunkten pro Zahn, entsprechend einem klinisch üblichen Vorgehen. Des Weiteren wurde auch die Anzahl der Zähne jedes Probanden erfasst, ebenso die Anzahl parodontal erkrankter Zähne. Zwar weist die Anzahl vorhandener Zähne in beiden Gruppen keinen wesentlichen Unterschied auf, jedoch ist bei vergleichender Betrachtung beider Gruppen hinsichtlich der Streubreite erwartungsgemäß ein Unterschied festzustellen. Die höhere Streubreite in der Gruppe der Erkrankten ist damit erklärbar, dass parodontitispositive Probanden durch diese Erkrankung in der Vergangenheit häufiger einen Zahnverlust erlitten haben als Gesunde – ein Umstand, der ebenfalls hinreichend belegt ist (NHANES III 1997; Micheelis et Schiffner 2005; Jordan, Lucaciu et al. 2011).

Indices

Um den parodontalen Gesundheitsstatus beider Probandengruppen zu dokumentieren, wurden drei verschiedene Parodontalindices erhoben. Der Approximalraum-Plaques-Index beziffert die Plaquemenge und gibt damit einen Hinweis auf den Status der Mundhygiene der Probanden. Bei Untersuchungen ist mit zunehmendem Schweregrad der Parodontitis zumeist auch eine Zunahme der Plaquemenge zu beobachten. Dies ist auf zwei Ursachen zurückzuführen. Zum einen ist davon auszugehen, dass die Plaqueretention bei Zähnen mit fortgeschrittener Schädigung des Zahnhalteapparats erhöht ist. Andererseits war bei Parodontitispatienten häufiger eine defizitäre Mundhygiene festzustellen (Greene 1963). Jedoch wurde dieser Zusammenhang bereits seit den 80er Jahren des letzten Jahrhunderts als primärer ätiologischer Faktor einer Parodontitis zunehmend in Zweifel gezogen. Seither konnte die Ursache einer Parodontitis in zunehmendem Maß im immunologischen Bereich nachgewiesen werden, sodass Defizite in der Mundhygiene zwar weiterhin als auslösend betrachtet werden, jedoch bei der Ätiologie einer Parodontitis nur noch als sekundärer Faktor einzustufen sind.

Sulkus-Blutungs-Index

Der Sulkus-Blutungs-Index (SBI) hingegen wird als Indikator für das Vorliegen einer akuten Entzündung betrachtet, sodass auch bei dieser diagnostischen Methode steigende Werte mit einem steigenden Schweregrad der Erkrankung zu erwarten sind (Lang, Joss et al. 1986; Lang, Adler et al. 1990). Zweifellos entspricht eine erhöhte Blutungsneigung nicht dem physiologischen Zustand, hinsichtlich ihrer Vorhersagekraft einer Parodontitis besitzt diese diagnostische Methode jedoch eine sehr eingeschränkte Aussagekraft. Zwar konnte nachgewiesen werden, dass die Blutungsneigung mit zunehmender Sondierungstiefe korreliert, jedoch stellte sich andererseits heraus, dass das Vorliegen einer erhöhten Blutungsneigung nicht zwangsweise zum Abbau parodontaler Strukturen führen muss (Lang, Joss et al. 1986; Lang, Adler et al. 1990). Die Feststellung einer Blutung auf Sondierung ergab keinerlei klinische Relevanz (Lang, Adler et al. 1990). Lang, Adler et al. konnten des Weiteren nachweisen, dass lediglich ein wiederholtes Ausbleiben der Blutung auf Sondierung eine klinisch

relevante Aussagekraft hatte (Lang, Adler et al. 1990). In der vorliegenden Untersuchung belegt der statistisch große Unterschied zwischen den Ergebnissen des Sulkus-Blutungs-Index beider Gruppen einen deutlich divergierenden Parodontalzustand beider Populationen. Während die gesunde Kontrollgruppe im Durchschnitt (Median) nahezu keine Blutungsneigung aufwies, zeigte die Gruppe der Erkrankten an etwas weniger als der Hälfte ihrer Zähne eine Blutungsneigung. Dieses Ergebnis steht dennoch nicht im Widerspruch zu den Aussagen von Lang et al. Zwar konnten diese Autoren in aller Deutlichkeit nachweisen, dass der Sulkus-Blutungs-Index als diagnostisches Instrument für die Verlaufskontrolle sowie zur Vorhersage eines Attachmentverlusts bei einzelnen Individuen ungeeignet ist. Die hier vorgelegten Ergebnisse zeigen lediglich, dass das Ergebnis des Sulkus-Blutungs-Index zwischen einem erkrankten und einem gesunden Kollektiv durchaus zu unterscheiden vermag.

Parodontaler Screening Index

Der Parodontale Screening Index (PSI) dient nach allgemeiner Auffassung der Früherkennung einer Parodontitis. Da dieser Index jedoch zu einem erheblichen Teil auf dem Sulkus-Blutungs-Index basiert, der, wie bereits dargelegt, eine sehr eingeschränkte Aussagekraft besitzt (Lang, Joss et al. 1986; Lang, Adler et al. 1990), kann auch dem Ergebnis des PSI keine besondere Bedeutung beigemessen werden. Des Weiteren basiert der PSI auf der Ermittlung der Taschensondierungstiefe. Somit ist auch beim PSI die prognostische Aussagekraft fraglich. Die Erhebung dieses Index ergab in der vorliegenden Studie, dass durchschnittlich (Median) 5 Sextanten pro Patient betroffen waren. Ein Ergebnis, das mit der Anzahl der betroffenen Zähne deutlich in Korrelation steht: 92 % der Zähne eines durchschnittlichen erkrankten Probanden (Median) weisen eine Taschensondierungstiefe von mehr als 3,5 mm und somit ein geschädigtes Parodontium auf. Gemeinsam mit dem deutlichen Ergebnis, das die Auswertung des Sulkus-Blutungs-Index (SBI) ergeben hat, verdeutlichen diese Zahlen die Tatsache, dass der weit überwiegende Teil der erkrankten Probanden zum Zeitpunkt der Untersuchung an einer mehr oder weniger akuten Form der Parodontitis erkrankt war und dass unter Berücksichtigung der fraglichen Aussagekraft solcher Indices allem Anschein nach ein besonders großer Teil der Zähne befallen war. Anhand dieser Ergebnisse lässt sich die

Schlussfolgerung ziehen, dass sowohl SBI als auch PSI zwar keine prognostische Aussage ermöglichen, ihre Ergebnisse jedoch durchaus zwischen krank und gesund zu unterscheiden vermögen, ohne dass hier eine Aussage getroffen wird hinsichtlich der Sensitivität dieser Methoden.

Approximalraum-Plaque-Index

Das Ergebnis der Auswertung des Approximalraum-Plaque-Index (API) in der vorliegenden Studie erweist sich ebenfalls als konform mit dem allgemeinen Kenntnisstand: Die erhobenen Daten zeigen eine deutlich höhere Plaqueretention bzw. lassen auf eine schlechtere Mundhygiene bei den parodontal Erkrankten schließen. Zwischen beiden Gruppen war bezüglich Plaque zwar ein signifikanter Unterschied zu erwarten, jedoch nicht in derart auffälligem Ausmaß. Zweifellos belegen diese Daten eine Korrelation zwischen erhöhter Plaquemenge und dem Vorliegen einer Parodontitis. Die Ursache der vermehrten Plaqueakkumulation ist jedoch unklar, sodass der kontrovers diskutierte Zusammenhang zwischen mangelhafter Mundhygiene und parodontaler Erkrankung anhand dieser Daten nicht geklärt werden kann. Die Plaquemenge kann durchaus als Biomarker betrachtet werden, da es sich um einen biologischen Indikator bzw. ein Merkmal handelt, das objektiv gemessen werden kann. Sowohl Plaqueakkumulation als auch Sulkusblutung stellen einen Risikofaktor für das Ausbrechen einer Parodontitis dar. Diese Auffälligkeiten treten jedoch zumeist bereits lange vor einer solchen Erkrankung auf und können auch Manifestation einer Gingivitis sein. In Bezug auf Verlauf und Schweregrad einer Parodontitis ist ihre Aussagekraft somit sehr begrenzt. Lediglich im Zusammenspiel mit der Messung der Taschentiefe ergeben sich Möglichkeiten einer Verlaufskontrolle bei Parodontitiden. Liegt eine Taschensondierungstiefe von mehr als 4-5 mm und eine Blutung auf Sondierung vor, so ist es klinischer Usus, in einem solchen Fall davon auszugehen, dass eine derartige Parodontaltasche „aktiv“ ist, d. h., dass in diesem Bereich eine akute Entzündung mit fortschreitender Zerstörung parodontaler Strukturen vorliegt. Eine derartige Diagnostik ist jedoch unpräzise und häufig fehlerhaft. Dennoch ist die regelmäßige Erhebung von Gingiva- und Plaqueindices sinnvoll, da sie die individuelle Mundhygiene und damit indirekt die Keimbelastung und somit das Parodontitisrisiko dokumentiert.

Rauchen

Ein weiterer besonders wichtiger Risikofaktor für das Entstehen einer Parodontitis ist der Tabakkonsum. Die vorliegende Arbeit erbrachte auch in diesem Zusammenhang Ergebnisse, die sich mit bestehenden Erkenntnissen in deutlicher Übereinstimmung befinden. Bei der Betrachtung des gesamten Patientenguts fällt in der vorliegenden Untersuchung auf, dass bei etwa einem Drittel aller Probanden (31,3 %) ein Zigarettenkonsum von mehr als 5 Zigaretten pro Tag zu verzeichnen war. Probanden, die einen Konsum von 5 Zigaretten pro Tag oder weniger angaben, wurden den Nichtrauchern zugerechnet. Teilt man das gesamte Patientenkollektiv in Raucher und Nichtraucher auf, so konnte anhand der erhobenen Daten konstatiert werden, dass Parodontitis unter Rauchern statistisch signifikant häufiger anzutreffen war, als dies unter Nichtrauchern der Fall war: Bei 63,6 % aller Probanden, die als Raucher klassifiziert wurden, konnte eine Parodontitis diagnostiziert werden. Dagegen war nur bei 41,1 % der Nichtraucher eine Parodontitis festzustellen. In Übereinstimmung mit zahlreichen Autoren konnte somit eindrücklich belegt werden, dass Raucher häufiger an einer Parodontitis erkranken als Nichtraucher (Beck, Koch et al. 1990; Tomar et Asma 2000; Saxer, Walter et al. 2007).

Zweifelsfrei ist Rauchen gemeinsam mit dem dentalen Biofilm (Plaqueakkumulation) als größter vermeidbarer Risikofaktor zu betrachten. Der negative Einfluss des Tabakkonsums auf die Gesundheit des Zahnhalteapparats ist zweifelsfrei nachgewiesen (Beck, Koch et al. 1990; Haber et Kent 1992; Stoltenberg, Osborn et al. 1993; Bergstrom et Preber 1994; Grossi, Zambon et al. 1994; Linden et Mullally 1994; Barbour, Nakashima et al. 1997; Axelsson, Paulander et al. 1998; Pauleto, Liede et al. 2000; Tomar et Asma 2000; Chen, Wolff et al. 2001; Calsina, Ramón et al. 2002; Hyman et Reid 2003; Mullally 2004; Kocher, Schwahn et al. 2005; Johnson et Guthmiller 2007; Albandar, Streckfus et al. 2000; Bergström, Eliasson et al. 2000; Kinane et Chestnutt 2000; Susin, Oppermann et al. 2004; Nakashima, Kobayashi et al. 2005; Palmer, Wilson et al. 2005; Torrungruang, Tamsailom et al. 2005; Thomson, Broadbent et al. 2007; Rehani, Scott et al. 2008; Walter, Saxer et al. 2007; Bagaitkar, Williams et al. 2009; Tymkiw, Thunell et al. 2010; Patel, Wilson et al. 2012; Souto,

Queiroz-Junior et al. 2014 (1); Souto, Queiroz-Junior et al. 2014 (2)). Im Vergleich zu Nichtrauchern weisen Raucher, die an einer Parodontitis erkrankt sind, einen größeren Attachmentverlust, einen größeren Verlust knöcherner Strukturen sowie größere Taschensondierungstiefen auf (Johnson et Guthmiller 2007). Auch die Wahrscheinlichkeit, eine schwere Form der Parodontitis anzutreffen, ist bei Rauchern im Vergleich zu Nichtrauchern deutlich erhöht. Ebenso ist bei Rauchern weitaus häufiger eine Therapieresistenz festzustellen (Palmer, Wilson et al. 2005) bzw. ein geringerer Therapieerfolg (Baumert, Johnson et al. 1994; Kaldahl, Johnson et al. 1996; Grossi, Zambon et al. 1997; Rieder, Joss et al. 2004; Garcia 2005). Die erhöhte Prävalenz der Parodontitis bei Rauchern lässt sich jedoch nicht allein auf eine schlechtere Mundhygiene dieser Population zurückführen. Selbst bei gleicher Plaquemenge weisen Raucher im Vergleich zu Nichtrauchern größere Taschensondierungstiefen (Linden et Mullally 1994; Chen, Wolff et al. 2001) sowie einen höheren Attachmentverlust (Linden et Mullally 1994; Axelsson, Paulander et al. 1998; Chen, Wolff et al. 2001) auf. Zugleich sind jedoch bei Tabakkonsumenten paradoxerweise verringerte Werte des Sulkus-Blutungs-Index sowie des Papillen-Blutungs-Index festzustellen (Chen, Wolff et al. 2001; Dietrich, Bernimoulin et al. 2004), was mit der vasokonstriktiven Wirkung des Nikotins und einer daraus resultierenden Hypoxie erklärt werden könnte. Dies könnte auch die klinische Beobachtung erklären, weshalb bei Rauchern trotz erhöhter parodontaler Sondierungswerte häufig eine verhältnismäßig blasse marginale Gingiva mit einer relativ geringen Ausprägung der klassischen Entzündungszeichen zu beobachten ist. Die noch vor einigen Jahren aufgestellte Behauptung, dass Raucher im Durchschnitt nicht nur eine schlechtere Mundhygiene (Greene 1963), sondern auch eine signifikant höhere Zahnsteinakkumulation (Haber et Kent 1992) aufweisen, gilt inzwischen als widerlegt.

Bei der Quantifizierung der Risikoerhöhung durch Rauchen besteht ein deutlicher Dissens. Dies erscheint nachvollziehbar in Anbetracht der Tatsache, dass die durchschnittliche Rauchexposition der Mundhöhle sowie die Menge des Tabakkonsums nur unpräzise beziffert werden können. Zudem ist zu bedenken, dass Rauchen im Zusammenspiel mit anderen Risikofaktoren eine kumulative Wirkung entfalten kann,

wodurch eine Risikoabschätzung zusätzlich erschwert wird. Schließlich differieren sowohl die Kriterien für den Konsumstatus als auch diejenigen für Definition, Prävalenz und Inzidenz der Parodontitis, sodass auch hier ein Vergleich der verschiedenen Studien miteinander nur bedingt möglich ist. Je nach Studie wird in der Literatur das relative Risiko für Raucher, an einer Parodontitis zu erkranken, im Vergleich zu Nichtrauchern als in etwa 2,6- bis 6-fach erhöht angegeben (Beck, Koch et al. 1990; Haber et Kent 1992; Beck 1994; Grossi, Zambon et al. 1994; Bergström et Preber 1994; Tomar et Asma 2000). In Verbindung mit dem Vorliegen einer genetischen Prädisposition in Form eines IL-1 β -Polymorphismus erhöht sich nach McGuire und Nunn für Raucher das Risiko eines Zahnverlusts infolge einer Parodontitis sogar auf das 7,7-Fache (McGuire et Nunn 1999).

Untersucht man die Hintergründe für die Wechselwirkung zwischen Parodontitis und Nikotinabusus, fällt bereits bei allgemeiner Betrachtung auf, dass Raucher im Vergleich zu Nichtrauchern eine allgemein erhöhte Anfälligkeit für Infektionserkrankungen aufweisen (Arcavi et Benowitz 2004; Araco, Gravante et al. 2008; Jeppesen, Nielsen et al. 2008). Der Zusammenhang zwischen Nikotinabusus und Parodontitis ist jedoch weitaus komplexer, als dass er allein mit einer erhöhten Neigung zu Entzündung und Infekten zu erklären wäre.

Zwar ist die Wechselwirkung zwischen Nikotinabusus und Parodontitis durch eine große Anzahl unterschiedlicher Studien belegt, dennoch konnten bislang nur wenige der dabei zugrunde liegenden Mechanismen eindeutig geklärt werden. Ein allgemeiner Konsens besteht jedoch darin, dass die gefäßverengende Wirkung von Nikotin und Kohlenstoffmonoxid in der Gingiva eine Ischämie auslöst (Hanioka, Tanaka et al. 2000), die zu einer eingeschränkten Ernährung des Gewebes sowie einer reduzierten Abwehrfähigkeit führt. In der Folge löst die Einwirkung des Tabakrauchs und seiner Metaboliten auf das Gewebe die Freisetzung freier Radikale durch den Wirtsorganismus aus. Diese schädigen das Gewebe auf zahlreichen Ebenen und verändern die Immunantwort des Wirtsorganismus zu seinen Ungunsten. Im Vergleich zu Nichtrauchern ist bei Rauchern eine veränderte Immunantwort zu beobachten, der negative Einfluss des Tabakrauchs auf die Immunantwort ist ebenfalls belegt (Barbour,

Nakashima et al. 1997; Kinane et Chestnutt 2000; Ryder, Wu et al. 2002; Mullally 2004; Palmer, Wilson et al. 2005; Rehani, Scott et al. 2008; Souto, Queiroz-Junior et al. 2014 (1); (Souto, Queiroz-Junior et al. 2014 (2)).

Der Zigarettenkonsum verändert die Abwehreigenschaften derart maßgeblich (Rehani, Scott et al. 2008; Souto, Queiroz-Junior et al. 2014 (1); (Souto, Queiroz-Junior et al. 2014 (2)), dass Rauchen als ein wesentlicher Faktor bei der Entstehung einer Parodontitis zu betrachten ist. Es stellt sich die Frage, ob Nikotin und seine Metaboliten die Ausschüttung proinflammatorischer oder antiinflammatorischer Zytokine begünstigen. Nach Ansicht einiger Autoren lösen Toxine gramnegativer Bakterien bei Rauchern nicht wie sonst üblich einen proinflammatorischen Verlauf der Immunantwort aus. Nach ihrer Ansicht bewirken Nikotin und seine Metaboliten eine Verschiebung des Interleukinspektrums hin zu einer vermehrten Ausschüttung des antiinflammatorischen IL-10 (Rehani, Scott et al. 2008). Die Ausschüttung von Zytokinen wie beispielsweise TNF- α , IL-1 β , IL-12 und IL-23 p40, deren Transkription durch den Faktor NF- κ B reguliert wird, wird somit durch Nikotin supprimiert (Rehani, Scott et al. 2008). Souto et al. konnten nachweisen, dass bei Rauchern eine Abnahme dendritischer Zellen zu verzeichnen ist sowie eine Veränderung der Serumkonzentration des IL-17a (Souto, Queiroz-Junior et al. 2014 (1)). Bagaitkar et al. wiederum konnten nachweisen, dass Porphyromonas-gingivalis-Zellen, die in vitro Tabakrauchextrakt ausgesetzt wurden, die proinflammatorische Wirtsantwort unterdrückten, sodass nach ihrer Ansicht bei Rauchern eine verminderte Ausschüttung von Interleukinen wie TNF- α , IL-6 und IL-12 erfolgt (Bagaitkar, Williams et al. 2009). Die entzündungssupprimierende Wirkung des Rauchens wird durch eine weitere Studie belegt, bei der im Sulkusfluid parodontal erkrankter Raucher im Vergleich zu Nichtrauchern reduzierte Mengen proinflammatorischer Zytokine (IL-1 α , IL-6, IL-12 p40, IL-8, MCP-1, MIP-1, RANTES) sowie eine reduzierte Anzahl regulatorischer T-Zellen (T_{reg}) und Natürlicher Killerzellen (NK-Zellen) nachgewiesen werden konnten (Tymkiw, Thunell et al. 2010). Des Weiteren ist im Sulkusfluid parodontal erkrankter Raucher eine geringere Menge neutrophiler Granulozyten zu verzeichnen (Pauletto, Liede et al. 2000). Es gibt auch Hinweise darauf, dass die durch gramnegative Mikroorganismen induzierte reaktive

Produktion von Sauerstoffradikalen durch Nikotin unterdrückt wird, sodass phagozytierte Zellen wie beispielsweise *Porphyromonas gingivalis* in geringerem Umfang abgetötet werden können (Xu, Scott et al. 2008). Dass der Nikotinkonsum bei einer Parodontitis einen supprimierenden Effekt auf die Immunantwort ausübt, scheint somit plausibel und hinreichend belegt. Zudem deckt sich dieses Erkenntnis mit der bereits erwähnten klinischen Beobachtung einer reduzierten Rötung und Schwellung der marginalen Gingiva bei Rauchern. Es stellt sich die Frage, ob Nikotin zusätzlich dazu auch Einfluss auf proinflammatorische Interleukine ausübt. Nach derzeitigem Kenntnisstand ist bei Rauchern im Sulkusfluid eine reduzierte IL-1 α -Konzentration festzustellen (Shirodaria, Smith et al. 2000; Petropoulos, McKay et al. 2004). Dagegen scheint die Anwesenheit von Nikotin und seinen Metaboliten auf die Sezernierung des proinflammatorischen IL-6 keinen Einfluss zu haben (Boström, Linder et al. 1999; Erdemir, Duran et al. 2004). Einer Studie zufolge wird, im Widerspruch zum oben genannten Studienergebnis von Rehani, Scott et al., die Sezernierung des IL-10 durch den Nikotinkonsum supprimiert (Goutoudi, Diza et al. 2004). Auch der Einfluss des Rauchens auf IL-1 β und TNF- α wird kontrovers beurteilt (Boström, Linder et al. 1999; Boström, Linder et al. 2000; Erdemir, Duran et al. 2004). Es gibt deutliche Hinweise darauf, dass Rauchen eine besondere Wirkung auf polymorphkernige Granulozyten hat. Zwar ändert sich ihre Anzahl unter dem Einfluss von Nikotin nicht in wesentlichem Umfang (Petropoulos G, McKay et al. 2004; Güntsch, Erler et al. 2006), jedoch verändert sich ihre protektive Funktion, sodass ihre Fähigkeit zur Phagozytose durch das Rauchen herabgesetzt wird (Güntsch, Erler et al. 2006).

In der hier vorliegenden Arbeit konnte hinsichtlich der Prävalenz der untersuchten Interleukine im Speichel kein Unterschied zwischen Rauchern und Nichtrauchern ermittelt werden. Folglich konnte die in der Literatur beschriebene veränderte Freisetzung der antiinflammatorischen Interleukine IL-4 und IL-10 bei Rauchern anhand der Speichelkonzentration in der vorliegenden Untersuchung nicht nachgewiesen werden. Das Ergebnis der Studie von Tymkiw, Thunell et al., wonach im Sulkusfluid parodontal erkrankter Raucher eine besonders deutliche Zunahme

antiinflammatorischer Interleukine zu registrieren ist, ermutigt jedoch, die Suche nach weiteren Zytokinen auch im Spülspeichel fortzusetzen.

Eine allgemein akzeptierte Tatsache ist die Erkenntnis, dass Tabakrauch eine Veränderung der bakteriellen Flora bewirkt, sodass Rauchen das Risiko einer Infektion mit parodontopathogenen Keimen erhöht (Zambon, Grossi et al. 1996; Umeda, Chen et al. 1998; Eggert, McLeod et al. 2001; Haffajee et Socransky 2001; van Winkelhoff, Bosch-Tijhof et al. 2001; Bagaitkar, Williams et al. 2009; Shchipkova, Nagaraja et al. 2010; Heikkinen, Pitkaniemi et al. 2012). Über die Art der Veränderungen, die das Rauchen im subgingivalen Milieu hervorruft, und die Mechanismen, die zu diesem Umstand führen, herrscht unter den Autoren jedoch Uneinigkeit. Dass die von Nikotin und Kohlenstoffmonoxid in der Gingiva ausgelöste Ischämie und die damit zusammenhängend eingeschränkte Abwehrfähigkeit zu einer Selektion zugunsten der Anaerobier führen, ist eine weit verbreitete Hypothese. Ein derartiger Zusammenhang konnte jedoch bislang trotz zahlreicher Hinweise noch nicht hinreichend und eindeutig nachgewiesen werden. Ergebnisse diverser Studien geben Hinweise darauf, dass bei Rauchern tatsächlich eine Verschiebung des Spektrums zu anaeroben und aggressiveren Mikrobiota hin stattfinden könnte (Zambon, Grossi et al. 1996; Shchipkova, Nagaraja et al. 2010). Hanioka et al. konnten nachweisen, dass der Sauerstoffdruck in den Parodontaltaschen von Rauchern reduziert ist (Hanioka, Tanaka et al. 2000), woraus geschlossen werden kann, dass dieser Umstand eine Selektion der Anaerobier durchaus begünstigt. Der eindeutige Beweis zur Stützung der genannten Hypothese fehlt jedoch bislang. Dagegen konnten Eggert et al. in einer entsprechenden Studie nachweisen, dass weder *Porphyromonas gingivalis* noch *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* bei Rauchern in erhöhter Konzentration anzutreffen waren (Eggert, McLeod et al. 2001). Eine erhöhte Prävalenz konnte bei Rauchern lediglich für den Keim *Prevotella intermedia* festgestellt werden (Eggert, McLeod et al. 2001). Dennoch stützt auch diese Studie die These, dass in Parodontaltaschen von Rauchern für anaerobe Bakterien ein günstigeres Habitat vorliegt, da *Prevotella intermedia* zu den gramnegativen und obligat anaeroben Bakterien zu zählen ist. Zudem konnten die eben genannten Autoren des Weiteren nachweisen, dass bei Rauchern im Vergleich zu Nichtrauchern ein erhöhtes

Wachstum parodontopathogener und anaerober Keime in Parodontaltaschen geringer Tiefe (<5 mm) zu verzeichnen war (Eggert, McLeod et al. 2001). Dies betraf die Keime *Porphyromonas gingivalis*, *Prevotella intermedia* und *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (Eggert, McLeod et al. 2001). Bei diesen Keimen – Keime des sogenannten roten Komplexes – handelt es sich um Bakterien, die eine obligate Bedingung für das Entstehen einer Parodontitis darstellen. In einer weiteren Studie untersuchten Heikkinen et al. die Auswirkungen des Tabakkonsums auf die orale Bakterienflora bei Jugendlichen: Während *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* und *Porphyromonas gingivalis* verhältnismäßig selten anzutreffen waren, konnte nur bei weiblichen Rauchern eine wesentlich höhere Prävalenz für die anaeroben, parodontopathogenen Keime *Prevotella intermedia*, *Tannerella forsythia* und *Treponema denticola* festgestellt werden (Heikkinen, Pitkaniemi et al. 2012). Nach Übersicht der vorliegenden Studien ist somit nachvollziehbar, dass sich die Hypothese, dass durch den Nikotinkonsum eine Selektion aggressiver, gramnegativer, anaerober Bakterien stattfindet, trotz Ausbleiben eindeutiger Beweise zu einer allgemeingültigen Annahme verfestigen konnte.

Prävalenz der Interleukine im Spülspeichel

Im Rahmen der hier vorliegenden Arbeit wurde die Prävalenz der Interleukine IL-4, IL-8, IL-10 und IL-12 im Spülspeichel untersucht. Die hier vorgelegte Studie stellt ein exploratives Vorgehen bei der Suche nach geeigneten Interleukinen im Spülspeichel dar, um deren Verwendung als Biomarker bei der Diagnostik der chronischen und akuten Parodontitis zu evaluieren. Bei den untersuchten Interleukinen handelt es sich um 2 inflammatorische und 2 antiinflammatorische Interleukine, die zu diesem Zweck ausgewählt worden waren. Die Auswahl der genannten Interleukine erfolgte nach Studium der einschlägigen Literatur, die den Verdacht erhärtete, dass nicht nur inflammatorische Interleukine bei der chronischen Parodontitis in erhöhter Konzentration eine Schlüsselrolle spielen. Hinweise auf Interaktionen zwischen inflammatorischen und antiinflammatorischen Interleukinen führten zu der genannten Auswahl. Der explorative Charakter dieser Studie ließ es sinnvoll erscheinen, Polymorphismen dieser Interleukine unberücksichtigt zu lassen. Die Betrachtung der

Eignung dieser Interleukine als Biomarker für eine chronische, manifeste Parodontitis und die Frage, ob Polymorphismen dieser Interleukine einen Risikofaktor für das Auftreten und die Progression einer Parodontitis darstellen, berühren einander nicht. Das Hauptanliegen bestand darin, die Prävalenz der genannten Interleukine im Spülspeichel im Zusammenhang mit Parodontitis und Zigarettenkonsum zu untersuchen. Da hinsichtlich einer Parodontitis grundlegende Kenntnisse über das komplexe Zusammenspiel der einzelnen Komponenten des Immunsystems derzeit noch unvollständig sind, muss die Bedeutung der Polymorphismen der genannten Interleukine im Speichel in einem späteren Schritt untersucht werden.

Prävalenz des IL-4

Der Vergleich der Konzentrationen der Interleukine IL-4, IL-8, IL-10 und IL-12 im Spülspeichel Erkrankter mit denen der gesunden Studiengruppe ergab, dass lediglich die IL-4-Konzentration einen statistisch signifikanten Unterschied zwischen beiden Probandengruppen aufwies. In der Studiengruppe der parodontal Erkrankten lag der Median der IL-4-Konzentration mit einer Ausprägung von 9,2 statistisch signifikant über dem der Gesunden (6,9). Da diesem Interleukin vorwiegend antiinflammatorische Eigenschaften zugeschrieben werden, überrascht dieses Ergebnis zunächst. Eine geringe Anzahl bislang veröffentlichter Arbeiten zu diesem Sachverhalt konnte keine Korrelation zwischen der Speichelkonzentration des IL-4 und einer Parodontalerkrankung feststellen (Vastardis, Leigh et al. 2003; Ramseier, Kinney et al. 2009; Teles, Likhari et al. 2009). Dagegen bestätigt eine Veröffentlichung jüngeren Datums das Ergebnis der hier vorgelegten Arbeit (Prakasam et Srinivasan 2014).

In geringfügig größerer Anzahl liegen Untersuchungsergebnisse zur IL-4-Konzentration im Sulkusfluid vor. Zweifellos können die Ergebnisse dieser Untersuchungen nicht direkt mit jenen der Untersuchungen der IL-4-Konzentration im Gesamtspeichel verglichen werden. Jedoch erscheint auch die Betrachtung der Prävalenz dieses Interleukins im Sulkusfluid sinnvoll, da das Sulkusfluid mit seinen Bestandteilen zur Zusammensetzung des Gesamtspeichels in wesentlichem Umfang beiträgt. Die Ergebnisse dieser Studien widersprechen sich jedoch. Einige Autoren stellten bei Gesunden im Sulkusfluid eine höhere IL-4-Konzentration als bei Erkrankten fest

(Giannopoulou, Kamma et al. 2003; Bozkurt, Yetkin et al. 2006; Pradeep, Roopa et al. 2008). In anderen Studien hingegen vermochte die IL-4-Konzentration im Sulkusfluid zwischen gesunden und erkrankten Probanden nicht zu unterscheiden (Bastos, Lima et al. 2009, Papathanasiou, Teles et al. 2014). Im Unterschied dazu konnten Tymkiw, Thunell et al. bei Parodontitiskranken jedoch eine erhöhte IL-4-Konzentration nachweisen (Tymkiw, Thunell et al. 2011).

Eine erhöhte Speichelkonzentration des IL-4 bei parodontal Erkrankten erscheint zunächst widersprüchlich, da unabhängig von der Betrachtung vorhandener Untersuchungsergebnisse im Verlauf einer Parodontitis eine Erhöhung inflammatorischer Interleukine zu erwarten ist. Schließlich handelt es sich bei der Parodontitis um ein entzündliches Geschehen, in dessen Verlauf entzündliche Parameter eine deutliche Mengenzunahme erfahren. Die Betrachtung bislang bekannter immunologischer Mechanismen im Rahmen einer chronischen Parodontitis lassen nach derzeitiger Erkenntnis eine Verringerung der IL-4-Werte bei parodontal Erkrankten vermuten. Nachzeitigem Verständnis wird die Progression einer Parodontitis im Wesentlichen durch ein Zusammenspiel proinflammatorischer (IL-1 α , IL-1 β , IL-6, IL-8, TNF- α , Metalloproteinasen, Prostaglandine) und antiinflammatorischer Faktoren (IL-10, TGF- β) gesteuert, wobei die proinflammatorischen als erhöht und die antiinflammatorischen als verringert angenommen werden. Diese Sichtweise erscheint jedoch angesichts der Komplexität der Sachlage stark vereinfachend. Bei genauer Betrachtung erscheinen die Eigenschaften des IL-4 und seine Interaktion mit anderen Bestandteilen des Immunsystems jedoch derart komplex, dass berechtigte Zweifel an einer solchen auf simplifizierten Zusammenhängen basierenden Vermutung aufkommen. Hier sei erneut auf das komplexe und in weiten Teilen noch nicht verstandene Zusammenspiel parodontopathogener Keime mit dem Immunsystem des Wirtsorganismus hingewiesen, bei dem Virulenzfaktoren bestimmter anaerober Keime die Wirtsabwehr umgehen, fehlleiten können oder in Teilbereichen sogar eine immunsuppressive Wirkung entfalten. Das besonders hohe Maß an Komplexität wird dadurch hervorgerufen, dass die Störung der Wirtsabwehr von den unterschiedlichen Virulenzfaktoren in unterschiedlicher Intensität auf verschiedenen Ebenen erfolgt.

Zudem wird diese Wirkung von weiteren endogenen und exogenen Faktoren moduliert. Davon abgesehen besitzt IL-4 neben der Fähigkeit, eine überschießende Immunreaktion zu dämpfen, auch eine geringere Anzahl proinflammatorischer Eigenschaften.

Die antiinflammatorischen Eigenschaften des IL-4 bestehen vorwiegend darin, dass IL-4 die Freisetzung von Substanzen mit gewebeabbauenden Eigenschaften wie IL-1 β , TNF- α (Levings et Schrader 1999), PGE-2, Matrixmetalloproteinasen (Jenkins, Javadi et al. 2004) und Kollagenasen hemmt. Durch Einwirkung des IL-4 wird die Funktion von Monozyten und Makrophagen reguliert. Des Weiteren kommt es durch seine Wirkung auch zur Hemmung der Synthese der Interleukine IL-6 (Gibbons, Martinez et al. 1990), IL-8 (Standiford, Strieter et al. 1990) und IL-12 (Levings et Schrader 1999). Somit erfüllt IL-4 die Aufgabe, eine überschießende Entzündungsreaktion zu verhindern. Da IL-4 unmittelbar die Ausschüttung derjenigen endogenen Substanzen reguliert, die die höchste resorptive Potenz besitzen, soll nach Ansicht einiger Autoren im Umkehrschluss dazu eine verringerte Freisetzung von IL-4 die Erhöhung der Ausschüttung kataboler, endogener Substanzen zur Folge haben (Shapira, van Dyke et al. 1992; Yamaoto, Kawabata et al. 1996). Bereits 1992 nahmen Shapira, van Dyke et al. an, dass ein Fehlen von IL-4 eine parodontale Erkrankung triggern würde (Shapira, van Dyke et al. 1992). Somit soll laut verschiedenen Autoren bereits eine verringerte IL-4-Synthese bei entzündlichen Prozessen für Gewebeabbau verantwortlich sein (Shapira, van Dyke et al. 1992; Yamamoto, Kawabata et al. 1996). Diese Hypothese, die bereits vor über zwei Dekaden aufgestellt wurde, konnte jedoch bislang nicht bestätigt werden, sodass es sich bei einer verringerten IL-4-Konzentration auch um eine Folge statt um eine Ursache handeln kann. Im Umkehrschluss erscheint es plausibel, dass eine erhöhte IL-4-Konzentration im erkrankten Gewebe durchaus eine physiologische Reaktion auf die überschießende Parodontalentzündung und die im Übermaß vorhandenen körpereigenen Substanzen mit gewebeabbauenden Eigenschaften sein kann. Die bereits genannten Studienergebnisse von Prakasam et Srinivasan sowie jene von Tymkiw, Thunell et al. sowie die Ergebnisse der hier vorgelegten Untersuchung bestätigen diese Hypothese.

In der Studie von Prakasam et Srinivasan wurde der Gesamtspeichel im Hinblick auf die Eignung verschiedener Substanzen als Biomarker für Parodontitis untersucht. Im Gegensatz zu der hier vorliegenden Studie verwendeten diese Autoren für ihre Untersuchung unstimulierten Gesamtspeichel. Neben den Interleukinen IL-4, IL-6, IL-10 und IL-17 wurde auch die Prävalenz der löslichen Form des toll-ähnlichen Rezeptors (sTLR-2) und jene des löslichen Glykoproteins CD14 (sCD14) im Gesamtspeichel parodontal Erkrankter sowie Gesunder untersucht. Als Kritikpunkt an dieser Studie lässt sich die Anzahl der Probanden anführen, die mit 40 gering erscheint (106 Probanden in der hier vorliegenden Studie). Verglichen mit der Studiengruppe der Gesunden wiesen die Erkrankten signifikant erhöhte IL-4- und IL-6-Werte der Konzentration der Interleukine im Speichel auf (Prakasam et Srinivasan 2014). Die Konzentration der Interleukine IL-17 und IL-10 im Speichel hingegen erwies sich bei den Erkrankten als signifikant niedriger (Prakasam et Srinivasan 2014). Sowohl die Konzentration des IL-17 als auch die des IL-4 im Speichel Parodontitiskranker stellte sich somit umgekehrt zu den Erwartungen dar: IL-4 war bei chronisch Erkrankten deutlich erhöht (Prakasam et Srinivasan 2014). IL-17 hingegen, ein Interleukin, das die Expression der Matrixmetalloproteinase-3 in Gingivafibroblasten begünstigt, wies bei chronisch kranken Parodontitisprobanden eine deutlich geringere Konzentration auf (Prakasam et Srinivasan 2014). Dieses Ergebnis gewinnt an Plausibilität durch den Umstand, dass IL-4 auf IL-17 inhibierend wirkt (Jenkins, Javadi et al. 2004). Von besonderer Bedeutung erscheint die Tatsache, dass die IL-4-Konzentration nach erfolgter Parodontalbehandlung Werte erreichte, die mit denen der gesunden Kontrollgruppe vergleichbar waren (Prakasam et Srinivasan 2014), ein weiterer Hinweis auf die Validität der vorgelegten Ergebnisse.

Ein weiterer Aspekt, der die Hypothese einer erhöhten IL-4-Ausschüttung im Rahmen einer chronischen Parodontitis stützt, sind Hinweise auf den Umstand, dass Th2-Zellen in parodontal erkranktem Gewebe in wesentlich größerer Anzahl vorzufinden sind als Th1-Zellen. Die Untersuchung von parodontal erkranktem Gewebe, das entsprechenden Patienten entnommen wurde, zeigte, dass Th-2-Zellen in entzündlich verändertem Parodontalgewebe wesentlich zahlreicher anzutreffen waren als ihre Antagonisten,

Zellen, die dem Th-1-System zuzurechnen sind (Lappin, MacLeod et al. 2001). Im Einklang dazu konnte festgestellt werden, dass in parodontal erkranktem Gewebe eine deutlich erhöhte IL-4-Ausschüttung stattfindet (Manhart, Reinhardt et al. 1994; Yamazaki, Nakajima et al. 1994; Aoyagi, Sugawara-Aoyagi et al. 1995). Die im Rahmen der hier vorliegenden Arbeit gemessene Konzentration des IL-4 im Speichel bestätigt somit diese Studienergebnisse. Ein erhöhter IL-4-Spiegel in Sulkusfluid bzw. im Speichel erscheint folglich durchaus vereinbar mit dem Zustand einer chronischen oder akuten Parodontitis. Obwohl ein abschließendes Urteil zur Funktion des IL-4 bei Parodontitiden nach derzeitigem Kenntnisstand nicht möglich ist, erscheint die Verwendung des IL-4 als Biomarker zur Diagnostik der chronischen Parodontitis aufgrund der hier vorgelegten Ergebnisse geeignet. Eine Bestätigung dieser Untersuchungsergebnisse der Prävalenz des IL-4 im Speichel erfolgt indirekt auch durch die in der vorliegenden Arbeit gemessenen Werte der IL-8-Konzentration im Speichel.

Prävalenz des IL-8

IL-8 wird häufig mit entzündlichen Prozessen assoziiert, unter anderem auch mit Parodontitiden (Huang, Haake et al. 1998; Uchida, Shiba et al. 2001; Sfakianakis, Barr et al. 2001). Die Rolle des IL-8 bei Entstehung und Progression der Parodontitis wird jedoch kontrovers diskutiert. Untersuchungen der IL-8-Prävalenz im Speichel wurden bislang vermehrt im Zusammenhang mit Karzinomen durchgeführt. Der Zusammenhang zwischen der Prävalenz des IL-8 im Speichel und dem Vorliegen einer Parodontitis ist bislang wenig erforscht. Teles, Likhari et al. untersuchten bei Parodontitiskranken die Konzentration einer Anzahl verschiedener Interleukine im Speichel, unter denen sich auch IL-8 befand. Einen Zusammenhang zwischen dem Vorliegen einer Parodontitis und der Interleukinkonzentration im Speichel konnte von diesen Autoren bei keinem der untersuchten Interleukine festgestellt werden (Teles, Likhari et al. 2009). Weitere bislang durchgeführte Untersuchungen in diesem Zusammenhang beziehen sich auf die IL-8-Konzentration im Sulkusfluid und erbrachten sich widersprechende Ergebnisse (Tsai, Ho et al. 1995; Mathur, Michalowicz et al. 1996; Chung, Grbic et al. 1997; Dongari-Bagtzoglou, Ebersole et al. 1998;

Gamonal, Acevedo et al. 2000; Jin, Söder et al. 2000; Giannopoulou, Kamma et al. 2003; Kebschull, Demmer et al. 2009; Zhu et Liu 2010; Tymkiw, Thunell et al. 2010; Thunell, Tymkiw et al. 2009; Goutoudi, Diza et al. 2012; Konopka, Pietrzak et al. 2012; Trindade, Olczak et al. 2012; Koss, Castro et al. 2014).

In der hier vorliegenden Untersuchung konnte IL-8 im Speichel beider Probandengruppen eindeutig nachgewiesen werden. Zwischen beiden Probandengruppen ergab sich ein geringer, jedoch statistisch nicht signifikanter Unterschied. Das Kollektiv der Erkrankten wies eine geringfügig höhere IL-8-Konzentration im Speichel auf.

Als proinflammatorisches Interleukin spielt IL-8 bei Entzündungen wie beispielsweise der Parodontitis eine besonders bedeutende Rolle. Seine Freisetzung wird durch diverse Reize wie Lipopolysaccharide, die Anwesenheit von IL-1, IL-3, IL-6, TNF- α , IFN- γ , Makrophagen-Granulozyten-CSF (MG-CSF) sowie oxidativen Stress ausgelöst. IL-8 wirkt chemotaktisch auf neutrophile Granulozyten und aktiviert diese. Diese Voraussetzungen lassen einen Anstieg dieses Interleukins im Speichel Parodontitiskranker erwarten, sodass das hier vorgelegte Untersuchungsergebnis ebenfalls zunächst überrascht. Jedoch hat es den Anschein, dass IL-8 bei akuten Prozessen eine bedeutend wichtigere Rolle spielt als bei chronischen Geschehen. IL-8 wird hauptsächlich im Taschenepithel sowohl gesunder als auch erkrankter Individuen sezerniert mit dem Zweck, die Migration neutrophiler Granulozyten in dieses Gewebe anzuregen (Kebschull, Demmer et al. 2009; Koss, Castro et al. 2014), eine zentrale Aufgabe in der akuten Phase der Entzündung. Trotz dieser zentralen Bedeutung im entzündlichen Geschehen gibt es jedoch bislang keine Anzeichen dafür, dass die IL-8-Menge im Sulkusfluid oder entzündeten Gewebe mit dem Ausmaß der Parodontalerkrankung korreliert (Koss, Castro et al. 2014). Unklar ist somit die Rolle des IL-8 bei der chronischen Parodontitis. Das hier vorgelegte Ergebnis widerspricht folglich nicht dem derzeit gültigen Wissen über die Rolle des IL-8 bei der chronischen Parodontitis. Gestützt wird das hier vorgelegte Ergebnis auch durch die Tatsache, dass sowohl IL-4 als auch IL-10 die Freisetzung von IL-8 inhibieren (Standiford, Strieter et al. 1990; Wang, Wu et al. 1994; Méndez-Samperio, García et al. 2002; Tabary, Muselet

et al. 2003; Tryzmel, Miskolci et al. 2003; Raingeaud, Pierre et al. 2005; Yilma, Singh et al. 2012). Somit stehen die hier festgestellten unauffälligen Werte der IL-8-Konzentration im Einklang mit der gemessenen Erhöhung der IL-4-Konzentration im Speichel Parodontitiskranker.

Eine weitere Erklärung für die gemessene IL-8-Menge kann die Betrachtung der Interaktion zwischen Bakterien des roten Komplexes und der Expression des IL-8 geben. Während einige Keime die Freisetzung von IL-8 fördern, besitzen *Porphyromonas gingivalis* und *Treponema denticola* die Eigenschaft, die IL-8-Freisetzung mit großer Effizienz zu hemmen und IL-8 mittels eigener Proteasen lokal sogar vollständig abzubauen (Darveau, Belton et al. 1998; Huang, Haake et al. 1998; Zhang, Dong et al. 1999; Huang, Kim et al. 2001). In-vitro-Studien unter Bedingungen, die oralen Verhältnissen glichen, konnten nachweisen, dass die Anwesenheit von *Porphyromonas gingivalis* bzw. *Treponema denticola* nach 6 bis 18 Stunden zu einem weitgehenden oder sogar vollständigen Abbau des vorhandenen IL-8 führten (Darveau, Belton et al. 1998; Deng, Han et al. 2001). Es ist somit denkbar, dass Speichelproben Parodontitiskranker, die ohne jegliche zeitliche Verzögerung unmittelbar nach der Entnahme der Untersuchung zugeführt werden, durchaus beträchtlich höhere IL-8-Konzentrationen aufweisen könnten. Eine lokal niedrige Prävalenz des IL-8 kann folglich auf die Aktivität besonderer Keime zurückzuführen sein und ist deshalb eine mögliche Erklärung für die hier vorgelegten unauffälligen Werte der IL-8-Prävalenz im Speichel Parodontitiskranker.

Insbesondere die Tatsache, dass neben proinflammatorischen Stimuli auch oxidativer Stress die Freisetzung von IL-8 fördert, hat zu dem Umstand geführt, dass IL-8 zunehmend Bedeutung findet als Marker bei Sepsis, diversen Infektionen, malignen Geschehen und anderen Erkrankungen (Kanda, Hirao et al. 1996; Pooran, Indaram et al. 2003; Yang, Brooks et al. 2005; Shazad, Knapp et al. 2010; Weitkamp, Reinsberg et al. 2002). Dennoch befürworten die hier vorgelegten Ergebnisse sowie die bislang erbrachten Resultate anderer Autoren im Zusammenhang mit Parodontitiden (Teles, Likhari et al. 2009; Rathnayake, Akerman et al. 2013) die Anwendung der IL-8-Prävalenz im Speichel als Marker für Parodontitis nicht.

Prävalenz des IL-10

Auch IL-10 konnte in der vorliegenden Arbeit im Speichel beider Studiengruppen eindeutig und in substantiellen Mengen nachgewiesen werden. Die gemessene IL-10-Konzentration im Speichel parodontal Erkrankter unterschied sich nicht in signifikantem Ausmaß von der gesunden Probanden. Vergleichbare Arbeiten liegen auch für dieses Interleukin in nur sehr begrenztem Umfang vor, zudem widersprechen sich deren Ergebnisse (Teles, Likhari et al. 2009; Prakasam et Srinivasan 2014). Während Prakasam et Srinivasan bei parodontal Erkrankten eine erhöhte IL-10-Konzentration im Speichel nachweisen konnten, vermochten die Werte der IL-10-Konzentration im Speichel in der Studie von Teles, Likhari et al. zwischen Gesunden und Erkrankten nicht zu unterscheiden. Auch Untersuchungen der IL-10-Konzentration im Sulkusfluid parodontal Erkrankter erbrachten gegensätzliche Ergebnisse (Gamonal, Acevedo et al. 2000; Bozkurt, Yetkin et al. 2006; Toker, Poyraz et al. 2008; Tymkiw, Thunell et al. 2011; Cetinkaya, Guzeldemir et al. 2013; Fu, Zhang et al. 2013). Gamonal, Acevedo et al. stellten in aktiven Taschen eine leichte, jedoch nicht signifikante Erhöhung der IL-10-Konzentration im Sulkusfluid fest (Gamonal, Acevedo et al. 2000). Nach erfolgter Parodontaltherapie glichen sich diese Werte denen der gesunden Kontrollgruppe an (Gamonal, Acevedo et al. 2000). Bozkurt, Yetkin et al. hingegen stellten bei Gesunden eine höhere IL-10-Konzentration fest (Bozkurt, Yetkin et al. 2006). Die Studie von Toker, Poyraz et al. wies keinen Unterschied zwischen parodontal Erkrankten und der gesunden Kontrollgruppe hinsichtlich der IL-10-Konzentration im Sulkusfluid nach (Toker, Poyraz et al. 2008). Die anschließende Durchführung einer Parodontaltherapie erbrachte keine Veränderung der anfangs ermittelten Werte (Toker, Poyraz et al. 2008; Fu, Zhang et al. 2013). Tymkiw, Thunell et al. konnten sowohl bei Gesunden als auch bei parodontal Erkrankten im Sulkusfluid keine nennenswerten Mengen an IL-10 feststellen (Tymkiw, Thunell et al. 2010).

Neben IL-4 besitzt auch IL-10 als antiinflammatorisches Interleukin die Eigenschaft, die Freisetzung von IL-8 zu hemmen. Zudem bremst IL-10 den entzündlich bedingten Gewebeabbau, indem es die Freisetzung des MMP-8-Antagonisten TIMP (tissue inhibitor of metalloproteinases) fördert, die Bildung von Osteoprotegerin induziert und

durch die Inhibierung von RANK (receptor activator of NF- κ B) die Osteoklastenaktivität hemmt (Garlet, Martins et al. 2004; Zhang et Teng 2006; Claudino, Trombone et al. 2008). IL-10 greift in das Verhältnis Th1-, Th2- und Th-17-Zellen zu T_{reg} ein und vermag es zu verändern. Verglichen mit IL-4 besitzt IL-10 antiinflammatorische Eigenschaften, die es in die Lage versetzen, als starker Inhibitor proinflammatorischer Zytokine eine weitaus größere Wirkung zu entfalten als IL-4 (Sagawa, Mochizuki et al. 1996). Im Tiermodell konnte für IL-10 bereits vielfach eine knochenprotektive Wirkung nachgewiesen werden (Xu, Kukita et al. 1995; Al-Rasheed, Scheerens et al. 2004; Dresner-Pollak, Gelb et al. 2004; Zhang et Teng 2006; Evans et Fox 2007; De Rossi, Rocha et al. 2008; Claudino, Garlet et al. 2010). Dabei konnte belegt werden, dass ein IL-10-Mangel die Anfälligkeit für einen durch *Porphyromonas gingivalis* induzierten Verlust des Alveolarknochens erhöht (Sasaki, Okamatsu et al. 2004). Auch scheint der Mangel an IL-10 weitere negative Auswirkungen auf das Knochengewebe zu haben (Dresner-Pollak, Gelb et al. 2004). Es stellt sich jedoch die Frage, in welchem Umfang diese in Tierversuchen gewonnenen Erkenntnisse auf das menschliche Parodont übertragbar sind. Jedoch gilt die osteoprotektive Wirkung des IL-10 auch beim menschlichen Parodont als erwiesen. Anhand der genannten Eigenschaften lässt sich jedoch keine Vorhersage hinsichtlich der erwarteten IL-10-Prävalenz im Speichel Parodontitiskranker treffen.

Es besteht der Verdacht, dass Polymorphismen des IL-10 zu einer überschießenden Immunantwort auf mikrobielle Reize beitragen. Haplotypen der entsprechenden Promoterregion beeinflussen die IL-10-Expression, sodass unterschiedliche Polymorphismen dieses Interleukins bekannt sind. Claudino, Trombone et al. konnten nachweisen, dass ein bestimmter Polymorphismus des IL-10-Gens (C-592A) mit Auftreten und Progression der Parodontitis assoziiert ist, da der genannte Polymorphismus bei Parodontitiskranken signifikant gehäuft vorkommt (Claudino, Trombone et al. 2008). Das polymorphe Allel C-592A der Promoterregion führt zur Ausbildung eines funktionellen Polymorphismus des IL-10-Proteins, dessen Anwesenheit eine Reduktion der gesamten IL-10-Freisetzung sowie verringerte TIMP-3- und OPG-Mengen (Osteoprotegerin) verursacht (Claudino, Trombone et al.

2008). Die reduzierten TIMP-3- und OPG-Spiegel haben eine erhöhte Knochendestruktion und damit ausgeprägte klinische Anzeichen der Parodontitis zur Folge. Des Weiteren erbrachten diese Studienergebnisse, dass die IL-10-Expression im Parodontalgewebe gesunder Probanden ohne Rücksicht auf Polymorphismen kaum erfolgte, bei Parodontitispatienten hingegen wesentlich stärker vorhanden war (Claudino, Trombone et al. 2008). Ein Hinweis darauf, dass bei einer entsprechenden Untersuchung des Sulkusfluids bzw. des Speichels bei erkrankten Probanden eine höhere IL-10-Konzentration zu erwarten ist. Auch anderen Studien zufolge stellt das Vorhandensein bestimmter IL-10-Polymorphismen einen Risikofaktor für Auftreten und Progression einer Parodontitis dar (Hennig, Parkhill et al. 2000; Berglundh, Donati et al. 2003; Scarel-Caminaga, Trevilatto et al. 2004; Sumer, Kara et al. 2007; Reichert, Machulla et al. 2008; Jaradat, Ababneh et al. 2012; Scapoli, Girardi et al. 2012; Zhong, Ding et al. 2012). IL-10-Polymorphismen werden vorwiegend mit dem Auftreten der chronischen Form der Parodontitis in Zusammenhang gebracht (Scarel-Caminaga, Trevilatto et al. 2004; Sumer, Kara et al. 2007; Jaradat, Ababneh et al. 2012; Scapoli, Girardi et al. 2012; Zhong, Ding et al. 2012).

Nach derzeitiger Kenntnis erscheint die Verwendung des IL-10 als Biomarker bei Parodontitis fraglich, insbesondere wenn Polymorphismen dieses Interleukins nicht berücksichtigt werden. Es gibt bislang nur wenige Anhaltspunkte dafür, dass die IL-10-Prävalenz in Sulkusfluid oder Speichel mit dem Vorliegen einer Parodontitis korreliert. Denkbar ist jedoch eine Verwendung bestimmter Polymorphismen als Biomarker für ein Abschätzen des Risikos, an einer Parodontitis zu erkranken.

Prävalenz des IL-12

Das IL-12 konnte in der hier vorgelegten Untersuchung im Speichel beider Studiengruppen ebenfalls eindeutig nachgewiesen werden, jedoch ohne signifikanten Unterschied zwischen den Probandengruppen. Vergleichbare Untersuchungen ergaben hinsichtlich der IL-12-Konzentration im Speichel gegensätzliche Ergebnisse (Teles, Likhari et al. 2009; Sharma, Khattak et al. 2014). In der bereits zitierten Studie von Teles, Likhari et al. vermochten IL-12-Konzentrationswerte im Speichel nicht zwischen Parodontitiskranken und Gesunden zu unterscheiden (Teles, Likhari et al. 2009).

Sharma, Khattak et al. hingegen erbrachten in einer rezenten Studie gänzlich andere Ergebnisse: Die IL-12-Konzentration zeigte sich bei Parodontitiskranken im Vergleich zur Kontrollgruppe in niedrigerer Konzentration (Sharma, Khattak et al. 2014). Nach nichtchirurgischer Parodontalbehandlung erhöhten sich diese Werte deutlich und näherten sich denen der gesunden Probandengruppe (Sharma, Khattak et al. 2014). Dieses Ergebnis erscheint schlüssig, wenn man bedenkt, dass IL-12 eine annähernd antagonistische Wirkung zu IL-4 und IL-10 besitzt. Untersuchungen der IL-12-Konzentration im Sulkusfluid Parodontitiskranker erbrachten ebenfalls sich widersprechende Ergebnisse (Tsai, Tsai et al. 2005; Orozco, Gemmell et al. 2006; Thunell, Tymkiw et al. 2010; Yücel, Berker et al. 2008), ebenso die Untersuchung der Konzentration des IL-12 im Blutserum parodontal Erkrankter (Cairo, Nieri et al. 2010; Sánchez-Hernández, Zamora-Perez et al. 2011; Robati, Ranjbari et al. 2011).

Neben seinen proinflammatorischen Eigenschaften entfaltet IL-12 auch eine gewisse immunregulatorische Tätigkeit innerhalb des Th1/Th2-Systems. Zusätzlich zu den widersprüchlichen Ergebnissen bislang erfolgter Untersuchungen geben folglich sowohl Eigenschaften des IL-12 als auch dessen Rolle im immunologischen Ablauf einer Parodontitis keinen Aufschluss darüber, welche Prävalenz dieses Interleukins im Speichel parodontal Erkrankter zu erwarten ist. Schließlich ist zu bedenken, dass offensichtlich auch bestimmte Mikroorganismen Einfluss auf die IL-12-Expression haben (Liang, Krauss et al. 2011). Liang, Krauss et al. konnten im Tierversuch nachweisen, dass *Porphyromonas gingivalis* durch Manipulation einzelner Bestandteile des Komplementsystems die Expression von IL-12 zu unterdrücken vermag (Liang, Krauss et al. 2011).

Zwar konnte in der hier vorgelegten Untersuchung nur für das IL-4 ein signifikanter Unterschied zwischen beiden Probandengruppen ermittelt werden, jedoch weisen die in dieser Studie ermittelten Werte der Speichelkonzentration der Interleukine IL-4, IL-8, IL-10 und IL-12 ein insgesamt stimmiges Ergebnis auf. Wie in den vorangegangenen Abschnitten dargelegt, widersprechen sich die ermittelten Werte für die einzelnen Interleukine nicht. Auch die in der vorliegenden Arbeit in Bezug auf Geschlecht, Alter,

Mundhygienestatus und Rauchen erhobenen epidemiologischen Daten ergeben ein stimmiges Gesamtbild und befinden sich im Einklang mit den Ergebnissen großer, allgemein anerkannter Studien – ein Beleg für die Validität der Ergebnisse der hier vorliegenden Untersuchung. Anhand der erhobenen Daten scheint eine Verwendung des IL-4 als Biomarker bei der chronischen Parodontitis zwar erfolgversprechend, jedoch erlaubt die Auswertung dieser Daten keine Aussage bezüglich der Sensitivität dieses Biomarkers. Dieser Umstand ist bedingt durch die bewusste Auswahl der Teilnehmer beider Probandenkollektive nach den Kriterien „eindeutig gesund“ und „eindeutig krank“. Aus diesem Grund hat die hier vorgelegte Studie einen explorativen Charakter, sie liefert Ergebnisse, die durch nachfolgende Studien verifiziert und vertieft werden können.

Zusätzlich zur vergleichenden Betrachtung wurden die in dieser Untersuchung erhobenen Daten einer multivariaten Analyse zugeführt. Deren Ergebnisse stützen die Annahme, dass Interleukine als Biomarker bei Parodontitis verwendet werden können. Die multivariate Analyse gibt Hinweise darauf, wie die Anwendung der Interleukine als Biomarker bei Parodontitis in Zukunft erfolgen kann. Dieser Analyse zufolge konnten Probanden über 42 Jahren, deren IL-10-Konzentration im Speichel größer als 0 und deren IL-4-Konzentration größer als 6,7 waren, mit einer Wahrscheinlichkeit von 96,7 % in die Gruppe der Erkrankten eingeordnet werden. Es zeigt sich damit, dass die diagnostische Aussagekraft einer einzelnen Interleukinkonzentration im Speichel durch zusätzliche Faktoren wie beispielsweise Alter oder weitere Interleukine drastisch erhöht werden kann. Im Zusammenspiel mit anderen Markern und diagnostischen Parametern können Interleukinkonzentrationen im Speichel somit valide Ergebnisse liefern, mit denen eine Parodontitis zuverlässig diagnostiziert werden kann. Es ist denkbar, dass in Zukunft ein bestimmtes Profil unterschiedlicher Zytokine sowie weiterer Biomarker eine Parodontitisdiagnostik ermöglicht, die nicht nur weit zuverlässigere Ergebnisse als die klinische Diagnostik liefern wird, sondern diese auch früher liefern kann, sodass die Erkrankung bereits in einem weitaus früheren Stadium bekämpft werden kann, bevor irreversible Schäden klinisch in Erscheinung treten.

Speicheldiagnostik

Hinsichtlich einer Verwendung eines Profils unterschiedlicher Zytokine und Biomarker erscheint die Studie von Ramseyer, Kinney et al. von besonderer Bedeutung. Diese Autoren konnten nachweisen, dass das Vorliegen einer Parodontitis mithilfe einer Kombination verschiedener Biomarker wie MMP-8, MMP-9, Osteoprotegerin und Porphyromonas gingivalis auch ohne klinische Parameter zuverlässig diagnostiziert werden kann (Ramseyer, Kinney et al. 2009). Erhöhte MMP-8-Werte in Kombination mit einem vermehrten Vorkommen an Treponema denticola ließen mit ausreichender Präzision eine Diagnostik des Schweregrads der Erkrankung zu (Ramseyer, Kinney et al. 2009). Derartige Ergebnisse bestätigen die mithilfe der multivariaten Analyse gewonnenen Erkenntnisse der vorliegenden Arbeit, wonach die Konzentration zweier unterschiedlicher Interleukine im Speichel in Kombination mit dem Alter der Probanden eine diagnostische Aussage hinsichtlich der Erkrankung erlaubt.

Es erscheint somit nachvollziehbar, dass das Potenzial der Speicheldiagnostik in jüngerer Vergangenheit im Hinblick auf die Diagnostik diverser Erkrankungen, aber auch im Speziellen bei Parodontitiden, von zahlreichen Autoren als besonders hoch eingeschätzt wird (Taba, Kinney et al. 2005; Miller, King et al. 2006; Ng, Donley et al. 2007; Lee, Garon et al. 2009; Wong et Lee 2009; Ramseyer, Kinney et al. 2009; Simek, Vondrakova et al. 2009; Malamud et Rodriguez-Chavez 2011; Miller, Foley et al. 2010; Osman, Costea et al. 2012). Die diagnostische Bedeutung betreffend besteht durchaus Hoffnung, dass Speichel bereits in naher Zukunft eine ähnliche Bedeutung haben wird wie Blut. Speichel ist als Ultrafiltrat des Blutserums eine Körperflüssigkeit, die nicht-invasiv verfügbar ist. Bei der Diagnose von Diabetes mellitus (Marchetti, Benzi et al. 1986), Hepatitis C (Bello, Pasquier et al. 1998; Elsana, Sikuler et al. 1998), HIV (Emmons 1997; Malamud 1997) und weiteren Erkrankungen konnte die Speicheldiagnostik bereits erfolgreich angewendet werden. Insbesondere das Sulkusfluid, das aus dem Sulkus zwischen Zahn und umgebendem Zahnfleisch fließt und somit Teil des Gesamtspeichels ist, beinhaltet bei Parodontitiskranken Entzündungszellen, Serumproteine, Bestandteile von untergegangenen Parodontalgewebe, Bakterien und Bakterientoxine sowie zahlreiche Bestandteile und

Produkte der Immunabwehr (Armitage 1996). Bei einer Entzündung des Parodontalgewebes erhöht sich die Flussrate des Sulkusfluids bis zum 30-Fachen des Normalzustands (Goodson 2003). Eine entsprechende Speicheluntersuchung könnte es ermöglichen, Lücken im Bereich der Diagnostik der Parodontitis zu schließen. Aus diesem Grund konzentriert sich die Speicheldiagnostik auf eine Suche nach geeigneten Biomarkern, biologischen Indikatoren oder Merkmalen, die objektiv gemessen werden können und Hinweise auf alle Aspekte einer Parodontitis geben können. Biomarker, beispielsweise Entzündungsmediatoren, könnten den Ausbruch einer akuten Phase einer chronischen Parodontitis identifizieren und das Ausmaß der Immunantwort quantitativ erfassen, um damit eine gezielte, die überschießende Immunantwort begrenzende Therapie zu ermöglichen. Bei einer Untersuchung des Speichels nach Biomarkern stellt sich die Frage, ob eine stellenspezifische Untersuchung der Sulkusflüssigkeit oder eine Untersuchung des Gesamtspeichels vorteilhafter ist. Zwar erlaubt die Untersuchung des Sulkusfluids Rückschlüsse auf die Lokalisation der Erkrankung, sie ist jedoch mit wesentlich höherem Aufwand verbunden. Zudem erfordert eine Probenentnahme des Sulkusfluids ein weitaus präziseres Vorgehen als eine Speichelentnahme. Um zu vermeiden, dass erkrankte Stellen übersehen werden, müssten Proben von allen Zähnen entnommen und untersucht werden, was einen sehr hohen Aufwand darstellt. Weitaus vorteilhafter erscheint daher eine Untersuchung des Gesamtspeichels, die zudem durch die leichte Verfügbarkeit des Speichels als Screeningmethode besonders geeignet wäre. Wegen des geringen Aufwands ist eine Speicheluntersuchung nicht an speziell ausgebildetes Fachpersonal gebunden. Aus diesen Gründen wurde in der vorliegenden Arbeit die Prävalenz der Interleukine im Gesamtspeichel untersucht. Speichel enthält nicht nur körpereigene Produkte aus dem Sekret der Speicheldrüsen und des Sulkusfluids, sondern auch bakterielle Produkte des Biofilms, die damit ebenfalls einer quantitativen Untersuchung zugänglich sind.

Die Untersuchung von Biomarkern im Speichel bzw. Sulkusfluid hat auch im zahnärztlichen Bereich bereits Eingang in den klinischen Alltag gefunden. Kommerzielle Tests zur Bestimmung der vorhandenen Menge an *Streptococcus mutans* und Lactobazillen sowie der Pufferkapazität des Speichels haben sich jedoch bei der

Bestimmung des individuellen Kariesrisikos nur teilweise bewährt, da das individuelle Kariesrisiko eines Patienten von weiteren Faktoren abhängig ist. Die Erkenntnis, dass Polymorphismen des IL-1 dazu beitragen, das Risiko einer Parodontitis-erkrankung abzuschätzen, löste zu Beginn des letzten Jahrzehnts Euphorie aus. Kommerzielle Tests wurden entwickelt und vertrieben. Während diese Erkenntnis aus wissenschaftlicher Sicht durchaus bahnbrechend war, blieb der praktische Nutzen jedoch gering. Es bleibt fraglich, in welchem Ausmaß ein parodontitisassoziierter Polymorphismus des IL-1 Einfluss auf die Progression der Erkrankung und auf den Behandlungserfolg hat (Huynh-Ba, Lang et al. 2007). Viele weitere Faktoren wie Rauchen, Mundhygiene, sozialer Status, Stress, orale Bakterienlast mit Bakterien des roten und des orangefarbenen Komplexes, Alkohol- oder Drogenabusus, Ernährungsverhalten etc. müssen zusätzlich zum IL-1-Polymorphismus eingehend betrachtet werden, damit das Erkrankungsrisiko eines einzelnen Individuums annähernd bestimmt werden kann. Der IL-1-Polymorphismus bleibt im Rahmen der Gesamtbetrachtung eines Individuums hinsichtlich seines Erkrankungsrisikos lediglich ein Teilaspekt. Die Aussagefähigkeit eines solchen Tests bleibt somit unklar (Greenstein et Hart 2002), sodass ein systematisches Screening nach IL-1-Polymorphismen nach derzeitigem Kenntnisstand nicht gerechtfertigt erscheint (Shapira, Wilensky et al. 2005).

Auch bakteriologische PCR-Tests zur quantitativen Untersuchung von Bakterien des roten und des orangefarbenen Komplexes haben sich im klinischen Alltag schon längst etabliert. Dabei wird die Keimlast im Sulkusfluid untersucht. Das Ergebnis dieser Untersuchung hat allein betrachtet zwar keine Aussagekraft über Ausmaß, Schwere oder Verlauf der Parodontitis. Dennoch ist diese Form der Diagnostik für die Auswahl der geeigneten Therapiemethode von herausragender Bedeutung. Die Anwendung dieser Methode findet jedoch nicht routinemäßig statt. Zahlreiche Autoren fordern eine häufigere Anwendung dieser Methode. Als Gegenargument für die breite Anwendung derartiger Diagnostik wird die Tatsache angeführt, dass Knochenabbau und Gewebedestruktion auch ohne auffälligen Bakterienbefund stattfinden können. Die abakterielle Form der Parodontitis ist jedoch ausgesprochen selten anzutreffen und zudem meist mit bestimmten, besonders auffälligen Krankheitsbildern assoziiert.

Einen für Parodontitiden zuverlässigen Biomarker stellt eine aktive Form der Matrixmetalloproteinase, die Matrixmetalloproteinase-8 (aMMP-8) dar (Sorsa, Mäntylä et al. 1999; Miller, King et al. 2006; Prescher, Maier et al. 2007; Gursoy, Könönen et al. 2010; Reinhardt, Stoner et al. 2010; Javed, Ahmed et al. 2013; Rathnayake, Akerman et al. 2013; Gupta, Gupta et al. 2014; Izadi Borujeni, Mayer et al. 2015). Bei der Gewebedestruktion im Rahmen einer Parodontitis nimmt die körpereigene aMMP-8 eine herausragende Rolle ein. aMMP-8 stellt ein Enzym dar, das von polymorphkernigen Leukozyten sezerniert wird und die Fähigkeit besitzt, die Struktur von Kollagen Typ I, II und III zu spalten, sprich das Kollagennetzwerk des Parodonts zu zerstören. Bei gewebedestruktiven, parodontopathogenen Prozessen kann dieses Enzym in der Sulkusflüssigkeit in deutlich erhöhter Konzentration nachgewiesen werden (Kinane 2000; Reinhardt, Stoner et al. 2010). Im Vergleich zu gesunden Individuen ist die Konzentration an aMMP-8 im Sulkusfluid bei Patienten, die an Parodontitis erkrankt sind, signifikant erhöht (Kinane, Darby et al. 2003; Prescher, Maier et al. 2007; Sorsa, Tjäderhane et al. 2006; Reinhardt, Stoner et al. 2010) und korreliert mit zukünftigen Knochenabbauprozessen (Reinhardt, Stoner et al. 2010). Die erfolgreiche Therapie und Remission der Entzündung wird durch eine Normalisierung der aMMP-8-Konzentration im Sulkusfluid angezeigt (Kinane, Darby et al. 2003). Auch im Gesamtspeichel ist ein erhöhter aMMP-8-Spiegel bei parodontal Erkrankten festzustellen (Gursoy, Könönen et al. 2010; Javed, Ahmed et al. 2013; Gupta, Gupta et al. 2014; Izadi Borujeni, Mayer et al. 2015). Die Diagnose einer deutlich erhöhten aMMP-8-Konzentration ermöglicht die Früherkennung einer parodontalen Destruktion, bevor sie klinisch manifest wird, sodass sie bei entsprechender Therapie aufgehalten werden kann, solange der Prozess noch reversibel ist. Dadurch ermöglicht dieser einfache kommerzielle Test eine Differentialdiagnostik zwischen Gingivitis und Parodontitis (Mäntylä, Stenman et al. 2003), da das Vorhandensein einer erhöhten aMMP-8-Konzentration einen akuten, aktiven Destruktionsprozess anzeigt. Die festgestellte Menge des schädigenden aMMP-8 erlaubt, sowohl Patienten mit einem erhöhten Risiko für eine progressiv-destruktive Parodontalerkrankung zu identifizieren, als auch eine valide Prognose über den drohenden parodontalen Gewebeabbau zu treffen (Reinhardt, Stoner et al. 2010). Die quantitative Messung des

Entzündungsmarkern aMMP-8 im Speichel ist ein inzwischen etabliertes Verfahren, das bereits kommerziell als Chairside-Test angeboten wird. Diese diagnostische Methode spielt in den letzten Jahren eine zunehmende Rolle sowohl in der Früherkennung als auch in der Therapiekontrolle eines parodontalen Entzündungsprozesses. Trotz der deutlichen Vorteile hat dieser Test die Parodontaldiagnostik bislang nicht revolutioniert. In der Praxis wird der Test nicht auf breiter Front angewendet. Es erscheint auch wenig nachvollziehbar, dass der Nutzen dieses Tests von einigen Vertretern der Parodontitisforschung mit verhaltener Zustimmung begrüßt wird. Als Kritikpunkt wird angeführt, dass ein positives Testergebnis auf die Auswahl der Therapiemethode keine Auswirkung haben soll. Die besondere Bedeutung dieser Diagnostik wird lediglich als ausschlaggebend für die Festlegung des Recallintervalls betrachtet. Der Nutzen der Früherkennung der Parodontitis mithilfe des aMMP-8-Tests bleibt dennoch unbestritten.

In jüngerer Vergangenheit konnte ein weiterer, viel versprechender Marker eruiert werden, dessen Konzentration im Speichel in deutlicher Korrelation zu parodontalen Entzündungsgeschehen steht. Es handelt sich dabei um das Calprotectin, synonym auch als L1-Protein, humanes Leukozytenprotein, MRP-8/14, Calgranulin, Antigen 27E10, Antigen 60BB oder Zystisches-Fibrose-Antigen benannt. Dieses Protein ist ein wesentlicher Bestandteil des Zytoplasmas neutrophiler Granulozyten und Monozyten, wo es die Mehrzahl der dort gelösten Proteine ausmacht. Das Protein Calprotectin besteht aus zwei Dimeren die jeweils zwei Kalziumbindungsstellen besitzen, so dass das gesamte Protein 4 Ca^{+} -Ionen binden kann. Erfolgt eine Kalziumbindung, so führt diese zu einer Strukturveränderung des Calprotectins, so dass eine Bindungsstelle für Manganionen aktiviert wird. Neben der Affinität für Mangan besitzt Calprotectin auch eine für Zink, die jedoch nicht auf die Vermittlung durch Kalziumionen angewiesen ist. Als Bestandteil der unspezifischen, angeborenen Immunantwort, wird Calprotectin von aktivierten Neutrophilen ausgeschüttet und kann als Nachweis eines entzündlichen Geschehens in Serum, Speichel, Urin, Liquor und Stuhl gemessen werden. Die protektive Wirkung besteht darin, dass Calprotectin die antibakteriell und antimykotisch wirksamen essentiellen Spurenelemente Mangan und Zink freisetzen kann (Stríz et Trebichavský 2004; Brophy et Nolan 2015).

Als Marker für entzündliche Geschehen im Darm (Morbus Crohn, Colitis ulcerosa Darminfektionen) hat sich Calprotectin eindeutig etabliert (Tibble J, Sigthorsson et al 2002; Wassell, Dolwani et al. 2004; Kawashima, Ishihara et al. 2016). Die Menge des fäkalen Calprotectins korreliert mit der endoskopisch festgestellten Entzündungsaktivität derart (Kawashima, Ishihara et al. 2016), dass anhand der Calprotectinuntersuchung im Stuhl eine Beurteilung der Krankheitsaktivität, des Heilungsverlaufs, zur Vorhersage eines Rezidivs, sowie zur Unterscheidung zwischen chronisch-entzündlichen Darmerkrankungen und funktionellen Darmerstörungen herangezogen wird.

Parodontopathogene Bakterien des roten Komplex respektive deren Metaboliten induzieren die Ausschüttung von Calprotectin (Suryono, Kido 2003; Kido, Kido et al. 2004). Da Calprotectin von aktivierten Neutrophilen ausgeschüttet wird, eignet es sich somit auch zur Verwendung als Marker für den Nachweis parodontaler Entzündungen in Serum (Sun, Meng et al. 2011) Speichel (Kaner, Bernimoulin et al. 2011; Haririan, Andrukhov et al. 2016) und Sulkusfluid (Nakamura, Kido et al. 2000; Lundy, Chalk et al. 2001; Andersen, Dessaix et al. 2010; Becerik, Afacan et al. 2011). Studien zufolge korreliert die Menge des Calprotectins derart mit dem Ausmaß parodontaler Entzündungen, dass die quantitative Bestimmung des Calprotectin im Speichel oder Sulkusfluid sogar eine Beurteilung der Krankheitsaktivität erlaubt (Nakamura, Kido et al. 2000; Andersen, Dessaix et al. 2010; Kaner, Bernimoulin et al. 2011). Zhou et al. konnten den experimentellen Nachweis erbringen, dass bereits im frühen Stadium einer Parodontalentzündung, einer plaqueinduzierte Gingivitis, ein Anstieg der Calprotectinmenge im Speichel zu verzeichnen ist (Zhou M, Meng et al. 2012). Es stellt sich die Frage nach der Spezifität dieses Biomarkers, da ein Anstieg der Calprotectin-Menge im Speichel auch durch das Vorliegen eines Sjögren-Syndrom oder einer Candidiasis verursacht wird (Sweet, Denbury et al. 2001).

Derzeit werden weitere unterschiedliche Substanzen erforscht, die im Rahmen einer Speicheluntersuchung diagnostisch aussagekräftige Ergebnisse liefern können, um als Biomarker bei Parodontitiden angewendet zu werden. Es handelt sich dabei um drei unterschiedliche Gruppen: mikrobielle Faktoren, Faktoren, die sich aus der

entzündlichen Reaktion des Wirtsorganismus ergeben, und Faktoren, die Aufschluss über Auf- und Abbauprozesse der Parodontalgewebe geben. Die größte Bedeutung für eine derartige Verwendung als Biomarker wird Substanzen zugesprochen, die sich aus der entzündlich bedingten Immunantwort des Wirtsorganismus ergeben (Ramseier, Kinney et al. 2009). Neben dem bereits bewährten aMMP-8 werden in dieser Gruppe Substanzen wie IL-1 β (Miller, King et al. 2006; Reinhardt, Stoner et al. 2010), MMP-9 (Ramseier, Kinney et al. 2009), IL-6, β -Glucuronidase (Lamster, Kaufman et al. 2003), C-reaktives Protein (Pederson, Stanke et al. 1995), Makrophagen-inflammatorisches Protein-1 α , TNF- α (Ng, Donley et al. 2007; Frodge, Ebersole et al. 2008) und Prostaglandin E₂ diskutiert (Ramseier, Kinney et al. 2009; Miller, Foley et al. 2010; Taba, Kinney et al. 2005). IL-1 β konnte im Speichel bzw. im Sulkusfluid Parodontitiskranker in erhöhter Konzentration nachgewiesen werden, zudem gibt es Hinweise darauf, dass die erhöhten Werte mit verschiedenen Parodontalindices korrelieren (Miller, King et al. 2006; Reinhardt, Stoner et al. 2010). Aus diesen Gründen könnte IL-1 β als Biomarker im Speichel bei der Verlaufskontrolle der Parodontitis durchaus von Bedeutung sein (Reinhardt, Stoner et al. 2010), insbesondere im Zusammenspiel mit anderen diagnostischen Faktoren.

Zu den mikrobiellen Faktoren, die als potenzielle Biomarker diskutiert werden, zählen Benzoyl-arginin- β -naphthylamid (BANA) und die verschiedenen Bakterien des roten Komplexes. BANA steht in Beziehung zu Bakterien des roten Komplexes und erlaubt Rückschlüsse auf das Fortschreiten der parodontalen Erkrankung (Loesche, Lopatin et al. 1992; Loesche, Kazor et al. 1997). Doch ebenso wie auch die bereits existenten bakteriologischen PCR-Tests ist die diagnostische Aussage mikrobieller Faktoren allein betrachtet gering. Sie geben zwar wichtige Hinweise zur Therapie der Parodontitis, können jedoch hinsichtlich des Ausmaßes der Entzündung und des Stadiums der Erkrankung keine Aussage treffen. Dennoch sind Bakterien bei den meisten Formen der Parodontitis eine notwendige Voraussetzung. Ein diagnostisches Vorgehen, bei dem entzündlich bedingte Biomarker mit bakteriell bedingten kombiniert werden, wie von Ramseier, Kinney et al. nachgewiesen, erscheint daher besonders sinnvoll (Ramseier, Kinney et al. 2009). In Ergänzung dazu können Faktoren einer weiteren Gruppe

verwendet werden, potenzielle Biomarker, die im Zusammenhang mit Auf- und Abbauprozessen der Parodontalgewebe, insbesondere von Knochengewebe, stehen. Abgesehen von aMMP-8, dessen Verwendung als Biomarker bereits erwiesen ist, scheinen auch die bereits benannten Interleukine IL-1 β , TNF- α und IL-6 Substanzen darzustellen, die von Zellen der wirtseigenen Abwehr sezerniert werden und Knochendestruktion unmittelbar begünstigen. Ihre Anwesenheit im Speichel scheint mit destruktiv-entzündlichen Parodontopathien zu korrelieren (Kinane, Darby et al. 2003; Miller, King et al. 2006; Sorsa, Tjäderhane et al. 2006; Ng, Donley et al. 2007). Folglich könnte deren überproportionale Anwesenheit im Speichel Hinweise auf eine akute Phase der Parodontitis geben. Nach derzeitigem Kenntnisstand erscheint es fraglich, ob IL-6 als Biomarker bei Parodontitis Verwendung finden kann. Die Ergebnisse diesbezüglicher Studien widersprechen sich. Während einige Autoren keine Korrelation zwischen der Konzentration des IL-6 im Speichel und Parodontitis feststellen konnten (Ramseier, Kinney et al. 2009; Teles, Likhari et al. 2009; Rathnayake, Akerman et al. 2013), wies die knappe Mehrheit der Autoren bei parodontal erkrankten Patienten eine signifikant höhere IL-6-Konzentration nach (Ng, Donley et al. 2007; Costa, Trevisan et al. 2010; Ebersole, Schuster et al. 2013; Prakasam et Srinivasan 2014). Dabei stehen nach Ng, Donley et al. IL-6-Werte im Speichel sogar in direkt proportionalem Verhältnis zu Knochenabbau bei Parodontitis (Ng, Donley et al. 2007). Im Zusammenhang mit körpereigenen Substanzen, die mit Auf- und Abbauprozessen der Parodontalgewebe, insbesondere von Knochengewebe, stehen, kann des Weiteren das α 2-Makroglobulin genannt werden. Auch diese Substanz der körpereigenen Abwehr ist im Speichel nachweisbar (Ohlsson, Rosengren et al. 1983). Als Inhibitor verschiedener Proteinasen steht die Konzentration dieses Plasmaproteins im umgekehrten Verhältnis zur Destruktion parodontaler Gewebe. Bei Patienten mit chronischer Parodontitis deutet daher eine verringerte Konzentration des α 2-Makroglobulins im Speichel auf die Aktivität eines destruktiven Prozesses hin (Aurer, Jorgić-Srdjak et al. 2005). Jedoch ist auch dieser Biomarker nicht spezifisch für eine Parodontalerkrankung. Weitere derartige Biomarker wie beispielsweise Inhibitoren der Metalloproteinasen (tissue inhibitors of metalloproteinases, TIMP) (Ingman, Tervahartiala et al. 1996; Górska et Nedzi-Góra 2006) und Aspartat-Aminotransferasen (AST) (Cesco, Ito et al. 2003; Zappacosta,

Manni et al. 2007) werden diskutiert. Zum anderen kommen auch Biomarker, die auf anabole Prozesse im Knochen hinweisen wie beispielsweise alkalische Phosphatase (Totan, Greabu et al. 2006), Osteocalcin sowie receptor activator of NF- κ B ligand und Osteoprotegerin (Miller, King et al. 2006; Buduneli, Biyikoğlu et al. 2008), in Frage.

Zu erwähnen sind auch die etwa 2000 verschiedenen Proteine unterschiedlicher Herkunft, die im Speichel zu finden sind. Ihre Funktion ist derzeit zum größten Teil noch unbekannt. Es existieren Hinweise darauf, dass bei entzündlichen Vorgängen Veränderungen im Proteinprofil des Speichels in Zukunft diagnostische Rückschlüsse auf das Vorhandensein einer Parodontitis ermöglichen könnten (Gonçalves L da R, Soares et al. 2010; Haigh, Setwart et al. 2010).

Ein beträchtliches Problem stellt die Spezifität der meisten potenziellen Biomarker dar, da das Vorkommen einer Ansammlung bestimmter entzündlich bedingter Faktoren im Speichel nicht auf Parodontitis begrenzt ist. Die Interaktion mit bakteriellen Lipopolysacchariden löst zwar bei Abwehrzellen des Wirtsorganismus eine unmittelbare Ausschüttung entzündlicher Mediatoren wie IL-1, TNF- α und Prostaglandin E2 aus. Jedoch können erhöhte Speichelwerte des Prostaglandins E2 beispielsweise auch auf andere entzündliche Vorgänge zurückzuführen sein. Die Spezifität solcher Biomarker in Bezug auf die Früherkennung einer Parodontitis ist derzeit noch unklar. Der diagnostische Nutzen einzelner Biomarker sowie einzelner Gruppen muss noch erforscht werden. Schließlich hat auch die Kritik am Nutzen des bereits kommerziell verfügbaren aMMP-8-Tests den Umstand verdeutlicht, dass Tests auf der Basis eines einzigen Biomarkers nur eingeschränkt zukunftsfähig sind. Deren Nutzen wird stets umstritten bleiben, da ein einzelner Biomarker nur ein Schlaglicht auf das gesamte Entzündungsgeschehen einer Parodontitis werfen kann. Es erscheint daher nachvollziehbar, dass nur ein Profil unterschiedlicher Faktoren parodontalspezifische und zuverlässige Diagnostik ermöglichen wird. Zukunftsfähig erscheint nach Abwägung des derzeitigen Kenntnisstands eine Kombination aus den drei genannten Hauptgruppen unterschiedlicher Marker: Entzündungsmarker, parodontopathogene Bakterien bzw.

bakteriell bedingte Biomarker und Faktoren, die Aufschluss über Auf- und Abbauprozesse der Parodontalgewebe geben.

Auch die Beurteilung präziser Grenzwerte erscheint bei Speicheluntersuchungen kritisch, da die Konzentration der Inhaltsstoffe des Speichels vom Stimulationsgrad der Speicheldrüsen abhängig ist. Dennoch, und das lässt sich bereits an erhältlichen kommerziellen Tests ersehen, wird es möglich sein, anhand der Konzentration der Inhaltsstoffe des Speichels valide diagnostische Aussagen zu treffen. Profile bestimmter Inhaltsstoffe, deren Konzentration in Relation zueinander zu betrachten ist, könnten diese Schwierigkeit überwinden, sodass der Stimulationsgrad der Speicheldrüsen vernachlässigt werden kann. Doch nicht nur der Stimulationsgrad der Speicheldrüsen hat Einfluss auf die Konzentration der Inhaltsstoffe. Auch das Rauchen beeinflusst beispielsweise Zusammensetzung und Konzentration der Zytokine im Sulkusfluid maßgeblich (Tymkiw, Thunell et al. 2011). Dieser Umstand konnte durch die eigenen Untersuchungen nicht bestätigt werden, erscheint jedoch angesichts der in der Literatur hinreichend beschriebenen Veränderungen, die das Immunsystem durch den Tabakkonsum erfährt, plausibel.

Es bedarf weiterer, breit angelegter Forschungsbemühungen, um festzustellen, welche Kombination unterschiedlicher Biomarker für die Diagnostik der Parodontitis geeignet ist. Parallel dazu ist auch eine weitergehende Erforschung des komplexen Zusammenspiels der endogenen und exogenen Faktoren bei Parodontitis zwingend erforderlich, da die Kenntnisse darüber derzeit noch unvollständig sind. Insbesondere das komplexe Zusammenspiel der einzelnen Komponenten des Immunsystems in Wechselwirkung mit exogenen Faktoren wie bakteriellen Toxinen, Tabakkonsum und genetischer Prädisposition bleiben derzeit zum großen Teil noch unverstanden. Schließlich ist auch die quantitative Beteiligung des Beitrags einzelner Komponenten am Verlust parodontaler Strukturen derzeit noch weitgehend unklar.

Die Ergebnisse der hier vorgelegten Untersuchung sowie die Durchsicht der Forschungsergebnisse der letzten Dekaden lassen es geradezu offensichtlich erscheinen, dass die Speicheldiagnostik die derzeit noch bestehende diagnostische Lücke bei der

Untersuchung der Parodontitis bereits in absehbarer Zukunft schließen wird. Zudem könnte die Anwendung einer derartigen Diagnostik die Erforschung grundlegender Zusammenhänge wesentlich befördern, indem die Ergebnisse breit angelegter Studien besser miteinander vergleichbar wären. Es ist davon auszugehen, dass die Speicheldiagnostik bei der Parodontitis in naher Zukunft sowohl bei der Verlaufskontrolle als auch als Screeningmethode zur Früherkennung unverzichtbar sein wird.

6 Zusammenfassung

Parodontitis ist eine der weltweit meistverbreiteten Erkrankungen. Selbst bei vorsichtiger Schätzung ist mehr als die Hälfte der Weltbevölkerung von dieser Erkrankung betroffen. Mit zunehmendem Alter steigen sowohl das Ausmaß der Schäden als auch die Anzahl der Betroffenen an und verursachen hohe Kosten für Krankenkassen und Gesellschaft. Epidemiologische Studien belegen im Verlauf der letzten Jahrzehnte einen deutlichen Anstieg sowohl bei Prävalenz als auch Inzidenz dieser Erkrankung. Bedingt durch die bakteriell-entzündliche Natur der Parodontitis ist in ihrem Verlauf das Auslösen einer Kaskade besonders komplexer immunologischer Abläufe zu verzeichnen, die jedoch bislang nur ungenügend verstanden sind. Zwischen Parodontitis und anderen bedeutenden und weit verbreiteten Erkrankungen bestehen zahlreiche Wechselwirkungen. Das Vorliegen einer Parodontitis erhöht das Risiko für Arteriosklerose, Herzinfarkt oder Schlaganfall. Eine besonders signifikante Assoziation besteht auch zu Diabetes mellitus, Rheumatoider Arthritis, Frühgeburtlichkeit und Atemwegserkrankungen.

Die epidemiologische und sozioökonomische Bedeutung der Parodontitis kontrastiert mit der Simplizität der Diagnostik. Es existieren kaum diagnostische Möglichkeiten, um den Verlauf dieser Erkrankung zu beurteilen. Mit den derzeit etablierten Methoden der Diagnostik kann eine Exazerbation oder Aggravation der Erkrankung nicht frühzeitig erkannt werden, sodass der Eintritt weiterer unumkehrbarer Schäden therapeutisch frühzeitig vermieden werden kann. Als valide und allgemein etablierte Methoden der Diagnostik gelten einzig die klinische Messung der Parodontaltaschentiefe durch Sondieren mit einer Parodontalsonde sowie die Röntgendiagnostik. Beide Methoden ermöglichen jedoch lediglich die Dokumentation bereits erfolgter, zurückliegender und irreversibler Schäden. Das frühzeitige Erkennen dieser Erkrankung ist damit kaum möglich. Zudem wirkt sich diese defizitäre Diagnostik auch negativ auf den wissenschaftlichen Fortschritt bei der Erforschung der Parodontitis aus.

Dieses Defizit macht eine neue Form der Diagnostik dieser so bedeutenden Erkrankung erforderlich. Wünschenswert ist eine laborgestützte Form der Diagnostik, die eindeutige

Ergebnisse liefert und deren Ergebnis nicht von der Erfahrung des Anwenders abhängt. Die Speicheldiagnostik bietet den Vorteil der Noninvasivität und die Probenentnahme kann auch von ungeschultem Personal durchgeführt werden. Aus diesem Grund wurde in der hier vorliegenden Studie die Prävalenz der Interleukine IL-4, IL-8, IL-10 und IL-12 im Speichel parodontal Erkrankter sowie bei einer gesunden Kontrollgruppe untersucht, um ihre Aussagekraft als Biomarker bei einer chronischen Parodontitis zu prüfen.

Die Komplexität immunologischer Vorgänge und deren Zusammenspiel mit endogenen und exogenen Faktoren erschwert das Verständnis dieser Erkrankung. Die Erforschung der Parodontitis erfordert daher stets die Berücksichtigung zahlreicher weiterer, insbesondere epidemiologischer Faktoren. Aus diesem Grund erfolgte zusätzlich zur Untersuchung der Prävalenz der Interleukine im Speichel auch die Erhebung weiterer Daten wie Geschlecht, Alter, Anzahl der betroffenen Zähne, Zustand der Mundhygiene, Blutungsneigung der marginalen Gingiva und Tabakkonsum (Rauchen).

Die Untersuchung der epidemiologischen Daten weist Ergebnisse auf, die sich mit denen großer, allgemein anerkannter Studien in Einklang befinden. Auch in Bezug auf den Tabakkonsum konnte eindeutig aufgezeigt werden, dass Raucher weitaus häufiger an einer Parodontitis erkranken. Hinsichtlich der Prävalenz der Interleukine IL-4, IL-8, IL-10 und IL-12 im Speichel ergab lediglich die Untersuchung des IL-4 einen signifikanten Unterschied zwischen dem erkrankten Kollektiv und der gesunden Kontrollgruppe. In der Studiengruppe der parodontal Erkrankten lag der Median der IL-4-Konzentration mit einer Ausprägung von 9,2 statistisch signifikant über dem der Gesunden (6,9). Die bivariate Untersuchung ergab hingegen keine Korrelation zwischen der Prävalenz der Interleukine und Geschlecht, Alter oder Tabakkonsum. Es zeigte sich, dass die multivariate Analyse dreier unterschiedlicher Daten – Prävalenz IL-10, Prävalenz IL-4 und Alter – eine besonders zuverlässige Diagnostik der Parodontitis ermöglicht. Daraus folgernd ist es vorstellbar, dass in Zukunft ein bestimmtes Profil aus der Prävalenz unterschiedlicher Zytokine im Speichel sowie weiterer Biomarker eine sehr zuverlässige Parodontitisdiagnostik ermöglichen und zudem einen wesentlichen Beitrag zum Verständnis der grundlegenden immunologischen Vorgänge liefern kann.

Die hier vorgelegte Studie hat einen explorativen Charakter, sie soll Ergebnisse liefern, die durch nachfolgende Studien verifiziert und vertieft werden können. Besonderes Augenmerk ist in zukünftigen Studien auf die Untersuchung des endogenen Faktors der genetischen Prädisposition und des exogenen Faktors der bakteriellen Flora zu richten. Es stellt sich die Frage, welcher Zusammenhang zwischen der genetischen Prädisposition und der bakteriellen Flora einerseits und der Prävalenz der Interleukine im Speichel andererseits besteht.

Derzeit werden zahlreiche weitere Faktoren erforscht, die als Biomarker für Parodontitis im Speichel relevant sein könnten. Es handelt sich dabei vorwiegend um Substanzen aus dem Bereich mikrobieller Faktoren, um Faktoren, die sich aus der entzündlichen Reaktion des Wirtsorganismus ergeben, und um Faktoren, die Aufschluss über Auf- und Abbauprozesse der Parodontalgewebe geben. Einen zuverlässigen Biomarker, der bereits kommerzielle Anwendung findet, stellt eine aktive Form der Matrixmetalloproteinase, die Matrixmetalloproteinase-8 (aMMP-8) dar. Eine Verlaufskontrolle der Parodontitis scheint mit dieser Form der Diagnostik möglich. Dies scheint auch für das Calprotectin zuzutreffen, das ebenfalls bereits kommerziell angewendet wird.

Sowohl die Forschungsergebnisse der letzten Jahre als auch die hier vorgelegten Ergebnisse zeigen, dass die Speicheldiagnostik bei der Diagnostik der Parodontitis, insbesondere der Verlaufskontrolle dieser Erkrankung, eine bedeutende Rolle spielen wird und die derzeit bestehenden Defizite ausräumen kann. Ein solcher Fortschritt würde auch die Erforschung der immunologischen Vorgänge wesentlich voranbringen. Eine effiziente Speicheldiagnostik würde die Diagnostik dieser Erkrankung drastisch vereinfachen, sodass eine derartige Untersuchung von medizinischen Hilfskräften aller Fachrichtungen durchgeführt werden könnte. Das Ergebnis in Form eines einfachen, allgemein verständlichen Laborwerts könnte dazu beitragen, die enorme Bedeutung dieser Erkrankung weiter in den Fokus der Aufmerksamkeit der gesamten Humanmedizin zu rücken.

7 Abkürzungen

aMMP-8	aktive Form der Matrixmetalloproteinase-8
API	Approximalraum-Plaques-Index
AST	Aspartat-Aminotransferase
BANA	Benzoyl-arginin- β -naphthylamid
BOP	bleeding on probing
CXCL8	CXC-motif-chemokin 8
ELISA	enzyme-linked immunosorbent assay
h-IL-10	humanes Interleukin-10
h-IL-12	humanes Interleukin-12
h-IL-1β	humanes Interleukin-1 β
h-IL-4	humanes Interleukin-4
h-IL-8	humanes Interleukin-8
HRP	Streptavidin-Peroxidase
IFN-γ	Gamma-Interferon
IgE	Immunglobulin E
IgG	Immunglobulin G
IgG4	Immunglobulin G4
IL-1	Interleukin-1
IL-10	Interleukin-10
IL-12	Interleukin-12
IL-1ra	Interleukin-1-Rezeptorantagonist
IL-1α	Interleukin-1 alpha
IL-1β	Interleukin-1 beta
IL-4	Interleukin-4
IL-8	Interleukin-8
LPS	Lipopolysaccharide
MCP-1	monocyte chemoattractant protein-1
MG-CSF	granulocyte macrophage Colony-stimulating factor, Makrophagen-Granulozyten-CSF
MHC-II-Komplex	major histocompatibility complex, Haupthistokompatibilitätskomplex Klasse II, MHC-Klasse-II-Komplex

Abkürzungen

MIP-1	macrophage inflammatory protein-1, makrophagen-inflammatorisches Protein 1
MMP-8	Matrixmetalloproteinase-8
MMP-9	Matrixmetalloproteinase-9
mRNA	Messenger-RNA
NF-κB	nuclear factor kappa-light-chain-enhancer of activated B-cells
OPT	Orthopantomogramm, Panoramaschichtaufnahme
PBS-Puffer	phosphate-buffered saline, phosphatgepufferte Salzlösung
PCR	polymerase chain reaction, Polymerase-Kettenreaktion
PGE-2	Prostaglandin E2
PSI	Parodontaler Screening Index
RANK	receptor activator of NF- κ B
RANKL	receptor activator of NF- κ B ligand
RANTES	regulated on activation, normal T cell expressed and secreted (CCL5, CC-chemokine ligand 5)
Sandwich-ELISA	Sandwich-enzyme-linked immunosorbent assay
SBI	Sulkus-Blutungs-Index
sCD14	lösliche Form des Glykoproteins CD14
sTLR-2	lösliche Form des toll-like-receptor 2
TGF-β	transforming growth factor β , transformierender Wachstumsfaktor β
TIMP	tissue inhibitor of metalloproteinase
TIMP-3	metalloproteinase inhibitor 3
TLR	toll-like receptor, toll-ähnlicher Rezeptor
TMB-Substratlösung	Tetramethylbenzidin-Substratlösung (stabilisiertes Chromogen)
TNF-α	Tumornekrosefaktor- α
T_{reg}	regulatorische T-Zelle

8 Literaturverzeichnis

A

- 1 **Abbas AK**, Murphy KM, Sher A. Functional diversity of helper T lymphocytes. *Nature*. 1996 Oct 31;383(6603):787-93.
- 2 **Agarwal S, Piesco NP, Johns LP, Riccelli AE**. Differential expression of IL-1 beta, TNF-alpha, IL-6, and IL-8 in human monocytes in response to lipopolysaccharides from different microbes. *J Dent Res*. 1995 Apr;74(4):1057-65.
- 3 **Ah MK, Johnson GK, Kaldahl WB, Patil KD, Kalkwarf KL**. The effect of smoking on the response to periodontal therapy. *J Clin Periodontol*. 1994 Feb; 21(2):91-7.
- 4 **Akagi S, Hiyama E, Imamura Y, Takesue Y, Matsuura Y, Yokoyama T**. Interleukin-10 expression in intestine of Crohn disease. *Int J Mol Med*. 2000 Apr; 5(4):389-95.
- 5 **Albandar JM, Brown LJ, L  e H**. Clinical features of early-onset periodontitis. *J Am Dent Assoc*. 1997 Oct;128(10):1393-9.
- 6 **Albandar JM, Brunelle JA, Kingman A**. Destructive periodontal disease in adults 30 years of age and older in the United States, 1988-1994. *J Periodontol*. 1999 Jan;70(1):13-29.
- 7 **Albandar JM, Streckfus CF, Adesanya MR, Winn DM**. Cigar, pipe, and cigarette smoking as risk factors for periodontal disease and tooth loss. *J Periodontol*. 2000 Dec;71(12):1874-81.
- 8 **Albandar JM**. Periodontal disease surveillance. *Journal of Periodontology* 2007;78 (7):1179-81.

- 9 Al-Rasheed A, Scheerens H, Srivastava AK, Rennick DM, Tatakis DN.** Accelerated alveolar bone loss in mice lacking interleukin-10: late onset. *J Periodontal Res.* 2004 Jun;39(3):194-8.
- 10 Andersen E, Dessaix IM, Perneger T, Mombelli A.** Myeloid-related protein (MRP8/14) expression in gingival crevice fluid in periodontal health and disease and after treatment. *J Periodontal Res.* 2010 Aug;45(4):458-63. doi: 10.1111/j.1600-0765.2009.01257.x. Epub 2010 Mar 9.
- 11 Andrian E, Grenier D, Rouabhia M.** In vitro models of tissue penetration and destruction by *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun.* 2004 Aug;72(8):4689-98.
- 12 Anwar H, Strap JL, Costerton JW.** Establishment of aging biofilms: possible mechanism of bacterial resistance to antimicrobial therapy. *Antimicrob Agents Chemother.* 1992 Jul;36(7):1347-51.
- 13 Aoyagi T, Sugawara-Aoyagi M, Yamazaki K, Hara K.** Interleukin 4 (IL-4) and IL-6-producing memory T-cells in peripheral blood and gingival tissue in periodontitis patients with high serum antibody titers to *Porphyromonas gingivalis*. *Oral Microbiol Immunol.* 1995 Oct;10(5):304-10.
- 14 Arbes SJ Jr, Slade GD, Beck JD.** Association between extent of periodontal attachment loss and self-reported history of heart attack: an analysis of NHANES III data. *J Dent Res.* 1999 Dec;78(12):1777-82.
- 15 Arcavi L, Benowitz NL.** Cigarette smoking and infection. *Arch Intern Med.* 2004 Nov 8;164(20):2206-16.
- 16 Armitage GC.** Periodontal diseases: diagnosis. *Ann Periodontol.* 1996 Nov;1(1):37-215.

- 17 Aurer A, Jorgić-Srdjak K, Plancak D, Stavljenić-Rukavina A, Aurer-Kozelj J.** Proinflammatory factors in saliva as possible markers for periodontal disease. *Coll Antropol.* 2005 Dec;29(2):435-9.
- 18 Axelsson P, Paulander J, Lindhe J.** Relationship between smoking and dental status in 35-, 50-, 65-, and 75-year-old individuals. *J Clin Periodontol.* 1998 Apr; 25(4):297-305.

B

- 19 Bacon K, Baggiolini M, Broxmeyer H, Horuk R, Lindley I, Mantovani A, Maysushima K, Murphy P, Nomiya H, Oppenheim J, Rot A, Schall T, Tsang M, Thorpe R, Van Damme J, Wadhwa M, Yoshie O, Zlotnik A, Zoon K; IUIS/WHO Subcommittee on Chemokine Nomenclature.** Chemokine/chemokine receptor nomenclature. *J Interferon Cytokine Res.* 2002 Oct;22(10):1067-8.
- 20 Bagaitkar J, Williams LR, Renaud DE, Bemakanakere MR, Martin M, Scott DA, Demuth DR.** Tobacco-induced alterations to Porphyromonas gingivalis-host interactions. *Environ Microbiol.* 2009 May;11(5):1242-53. doi:10.1111/j.1462-2920.2008.01852.x. Epub 2009 Jan 23
- 21 Baggiolini M, Clark-Lewis I.** Interleukin-8, a chemotactic and inflammatory cytokine. *FEBS Lett.* 1992 Jul 27;307(1):97-101.
- 22 Bahekar AA, Singh S, Saha S, Molnar J, Arora R.** The prevalence and incidence of coronary heart disease is significantly increased in periodontitis: a meta-analysis. *Am Heart J.* 2007 Nov;154(5):830-7. Epub 2007 Aug 20.
- 23 Barbour SE, Nakashima K, Zhang JB, Tangada S, Hahn CL, Schenkein HA, Tew JG.** Tobacco and smoking: environmental factors that modify the host

response (immune system) and have an impact on periodontal health. Crit Rev Oral Biol Med. 1997;8(4):437-60.

- 24 Bartold PM, Marshall RI, Haynes DR.** Periodontitis and rheumatoid arthritis: a review. J Periodontol. 2005 Nov;76(11 Suppl):2066-74.
- 25 Bartold PM, Walsh LJ, Narayanan AS.** Molecular and cell biology of the gingiva. Periodontol 2000. 2000 Oct;24:28-55.
- 26 Baskaradoss JK, Geevarghese A, Kutty VR.** Maternal periodontal status and preterm delivery: a hospital based case-control study. J Periodontal Res. 2011 Apr 21. doi:10.1111/j.1600-0765.2011.01371.x.
- 27 Bastos MF, Lima JA, Vieira PM, Mestnik MJ, Faveri M, Duarte PM.** TNF-alpha and IL-4 levels in generalized aggressive periodontitis subjects. Oral Dis. 2009 Jan;15(1):82-7. doi:10.1111/j.1601-0825.2008.01491.x. Epub 2008 Sep 29.
- 28 Becerik S, Afacan B, Oztürk VÖ, Atmaca H, Emingil G.** Gingival crevicular fluid calprotectin, osteocalcin and cross-linked N-terminal telopeptid levels in health and different periodontal diseases. Dis Markers. 2011;31(6):343-52. doi: 10.3233/DMA-2011-0849.
- 29 Beck J, Garcia R, Heiss G, Vokonas PS, Offenbacher S.** Periodontal disease and cardiovascular disease. J Periodontol. 1996 Oct;67(10 Suppl):1123-37.
- 30 Beck JD, Koch GG, Rozier RG, Tudor GE.** Prevalence and risk indicators for periodontal attachment loss in a population of older community-dwelling blacks and whites. J Periodontol 1990;61:521-528.
- 31 Beck JD, Koch GG, Rozier RG, Tudor GE.** Prevalence and risk indicators for periodontal attachment loss in a population of older community-dwelling blacks and whites. J Periodontol. 1990 Aug;61(8):521-8.

- 32 Beck JD, Offenbacher S.** Systemic effects of periodontitis: epidemiology of periodontal disease and cardiovascular disease. *J Periodontol.* 2005 Nov;76(11 Suppl):2089-100.
- 33 Beck JD, Sharp T, Koch GG, Offenbacher S.** A 5-year study of attachment loss and tooth loss in community-dwelling older adults. *J Periodontal Res* 1997;32:516-523.88.
- 34 Beck JD.** Methods of assessing risk for periodontitis and developing multifactorial models. *J Periodontol.* 1994 May;65(5 Suppl):468-78.
- 35 Behle JH, Papapanou PN.** Periodontal infections and atherosclerotic vascular disease: an update. *Int Dent J.* 2006 Aug;56(4 Suppl 1):256-62.
- 36 Bello PY, Pasquier C, Gourney P, Puel J, Izopet J.** Assessment of a hepatitis C virus antibody assay in saliva for epidemiological studies. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1998 Aug;17(8):570-2.
- 37 Benguigui C, Bongard V, Ruidavets JB, Chamontin B, Sixou M, Ferrières J, Amar J.** Metabolic syndrome, insulin resistance, and periodontitis: a cross-sectional study in a middle-aged French population. *J Clin Periodontol.* 2010 Jul;37(7):601-8. Epub 2010 May 13.
- 38 Berglundh T, Donati M, Hahn-Zoric M, Hanson LA, Padyukov L.** Association of the -1087 IL 10 gene polymorphism with severe chronic periodontitis in Swedish Caucasians. *J Clin Periodontol.* 2003 Mar;30(3):249-54.
- 39 Berglundh T, Donati M.** Aspects of adaptive host response in periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2005;32 Suppl 6:87-107
- 40 Bergström J, Eliasson S, Dock J.** A 10-year prospective study of tobacco smoking and periodontal health. *J Periodontol.* 2000 Aug;71(8):1338-47.
- 41 Bergström J, Preber H.** Tobacco use as a risk factor. *Journal of Periodontology.* 1994;65:545-550.

- 42 Bielawska-Pohl A, Blesson S, Benlalam H, Trenado A, Opolon P, Bawa O, Rouffiac V, Dus D, Kieda C, Chouaib S.** The anti-angiogenic activity of IL-12 is increased in iNOS^{-/-} mice and involves NK cells. *J Mol Med (Berl)*. 2010 Aug; 88(8):775-84. Epub 2010 Apr 11.
- 43 Bodet C, Chandad F, Grenier D.** Pathogenic potential of *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola* and *Tannerella forsythia*, the red bacterial complex associated with periodontitis. *Pathol Biol (Paris)*. 2007 Apr-May;55(3-4): 154-62. Epub 2006 Oct 17.
- 44 Boström L, Linder LE, Bergström J.** Smoking and crevicular fluid levels of IL-6 and TNF-alpha in periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 1999 Jun;26(6): 352-7.
- 45 Boström L, Linder LE, Bergström J.** Smoking and GCF levels of IL-1beta and IL-1ra in periodontal disease. *J Clin Periodontol*. 2000 Apr;27(4):250-5.
- 46 Bourgeois D, Bouchard P, Mattout C.** Epidemiology of periodontal status in dentate adults in France, 2002-2003. *J Periodontal Res*. 2007 Jun;42(3):219-27.
- 47 Bozkurt FY, Yetkin Ay Z, Berker E, Tepe E, Akkuş S.** Anti-inflammatory cytokines in gingival crevicular fluid in patients with periodontitis and rheumatoid arthritis: a preliminary report. *Cytokine*. 2006 Aug;35(3-4):180-5. Epub 2006 Sep 18.
- 48 Brothwell D, Ghiabi E.** Periodontal health status of the Sandy Bay First Nation in Manitoba, Canada. *Int J Circumpolar Health*. 2009 Feb;68(1):23-33.
- 49 Brouqui P, Raoult D.** Endocarditis due to rare and fastidious bacteria. *Clin Microbiol Rev* 2001;14:177-207.
- 50 Brown LF, Beck JD, Rozier RG.** Incidence of attachment loss in community-dwelling older adults. *J Periodontol* 1994;65:316-323.

- 51 Brown LJ, L e H.** Prevalence, extent, severity and progression of periodontal disease. *Periodontol* 2000. 1993 Jun;2:57-71.
- 52 Brophy MB, Nolan EM.** Manganese and microbial pathogenesis: sequestration by the Mammalian immune system and utilization by microorganisms. *ACS Chem Biol*. 2015 Mar 20;10(3):641-51. doi: 10.1021/cb500792b. Epub 2015 Jan 16.
- 53 Buduneli N, Biyiko lu B, Sherrabeh S, Lappin DF.** Saliva concentrations of RANKL and osteoprotegerin in smoker versus non-smoker chronic periodontitis patients. *J Clin Periodontol*. 2008 Oct;35(10):846-52. doi:10.1111/j.1600-051X.2008.01310.x. Epub 2008 Aug 24.
- 54 Byrne SJ, Dashper SG, Darby IB, Adams GG, Hoffmann B, Reynolds EC.** Progression of chronic periodontitis can be predicted by the levels of *Porphyromonas gingivalis* and *Treponema denticola* in subgingival plaque. *Oral Microbiol Immunol*. 2009 Dec;24(6):469-77.

C

- 55 Cairo F, Nieri M, Gori AM, Tonelli P, Branchi R, Castellani S, Abbate R, Pini-Prato GP.** Markers of systemic inflammation in periodontal patients: chronic versus aggressive periodontitis. An explorative cross-sectional study. *Eur J Oral Implantol*. 2010 Summer;3(2):147-53.
- 56 Calsina G, Ramón JM, Echeverr a JJ.** Effects of smoking on periodontal tissues. *J Clin Periodontol*. 2002 Aug;29(8):771-6.
- 57 Cavrini F, Sambri V, Moter A, Servidio D, Marangoni A, Montebugnoli L, Foschi F, Prati C, Di Bartolomeo R, Cevenini R.** Molecular detection of *Treponema denticola* and *Porphyromonas gingivalis* in carotid and aortic atheromatous plaques by FISH: report of two cases. *J Med Microbiol*. 2005 Jan; 54(Pt 1):93-6.

- 58 Cesco R de T, Ito IY, de Albuquerque RF Jr.** Levels of aspartate aminotransferase (AST) in saliva of patients with different periodontal conditions. *J Clin Periodontol.* 2003 Aug;30(8):752-5.
- 59 Cetinkaya B, Guzeldemir E, Ogus E, Bulut S.** Proinflammatory and anti-inflammatory cytokines in gingival crevicular fluid and serum of patients with rheumatoid arthritis and patients with chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2013 Jan;84(1):84-93. doi:10.1902/jop.2012.110467. Epub 2012 Mar 13
- 60 Chen X, Wolff L, Aepli D, Guo Z, Luan W, Baelum V, Fejeskov O.** Cigarette smoking, salivary/gingival crevicular fluid cotinine and periodontal status. A 10-year longitudinal study. *J Clin Periodontol.* 2001 Apr;28(4):331-9.
- 61 Christersson LA, Albini B, Zambon JJ, Wikesjö UM, Genco RJ.** Tissue localization of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* in human periodontitis. I. Light, immunofluorescence and electron microscopic studies. *J Periodontol.* 1987 Aug;58(8):529-39.
- 62 Chung RM, Grbic JT, Lamster IB.** Interleukin-8 and beta-glucuronidase in gingival crevicular fluid. *J Clin Periodontol.* 1997 Mar;24(3):146-52.
- 63 Claudino M, Garlet TP, Cardoso CR, de Assis GF, Taga R, Cunha FQ, Silva JS, Garlet GP.** Down-regulation of expression of osteoblast and osteocyte markers in periodontal tissues associated with the spontaneous alveolar bone loss of interleukin-10 knockout mice. *Eur J Oral Sci.* 2010 Feb;118(1):19-28. doi: 10.1111/j.1600-0722.2009.00706.x.
- 64 Claudino M, Trombone AP, Cardoso CR, Ferreira SB Jr, Martins W Jr, Assis GF, Santos CF, Trevilatto PC, Campanelli AP, Silva JS, Garlet GP.** The broad effects of the functional IL-10 promoter-592 polymorphism: modulation of IL-10, TIMP-3, and OPG expression and their association with periodontal disease outcome. *J Leukoc Biol.* 2008 Dec;84(6):1565-73. doi:10.1189/jlb.0308184. Epub 2008 Aug 25.

- 65 Cocco C, Ferretti E, Airoidi I, Pistoia V.** Cytokines as anti-angiogenic agents in haematological malignancies. *Curr Cancer Drug Targets*. 2011 Nov;11(9): 997-1004.
- 66 Consensus report.** Periodontal diseases: pathogenesis and microbial factors. *Ann Periodontol*. 1996 Nov;1(1):926-32. (identisch mit: American Academy of Periodontology (AAP). Periodontal diseases: Pathogenesis and microbial factors. *Ann Periodontol* 1996, 1:926-932)
- 67 Costa PP, Trevisan GL, Macedo GO, Palioto DB, Souza SL, Grisi MF, Novaes AB Jr, Taba M Jr.** Salivary interleukin-6, matrix metalloproteinase-8, and osteoprotegerin in patients with periodontitis and diabetes. *J Periodontol*. 2010 Mar;81(3):384-91. doi:10.1902/jop.2009.090510.
- 68 Cullinan MP, Westerman B, Hamlet SM, Palmer JE, Faddy MJ, Lang NP, Seymour GJ A.** Longitudinal study of interleukin-1 gene polymorphisms and periodontal disease in a general adult population *J Clin Periodontol*. 2001 Dec; 28(12):1137-44

D

- 69 Dahlén GG.** Black-pigmented gram-negative anaerobes in periodontitis. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 1993 Mar;6(2-3):181-92.
- 70 D'Aiuto F, Parkar M, Andreou G, Suvan J, Brett PM, Ready D, Tonetti MS.** Periodontitis and systemic inflammation: control of the local infection is associated with a reduction in serum inflammatory markers. *J Dent Res*. 2004 Feb;83(2):156-60.
- 71 Darveau RP, Belton CM, Reife RA, Lamont RJ.** Local chemokine paralysis, a novel pathogenic mechanism for *Porphyromonas gingivalis*. *Infect Immun*. 1998 Apr;66(4):1660-5.

- 72 Darveau RP, Tanner A, Page RC.** The microbial challenge in periodontitis. *Periodontol 2000*. 1997 Jun;14:12-32.
- 73 Davey M, Liu X, Ukai T, Jain V, Gudino C, Gibson FC 3rd, Golenbock D, Visintin A, Genco CA.** Bacterial fimbriae stimulate proinflammatory activation in the endothelium through distinct TLRs. *J Immunol*. 2008 Feb 15;180(4):2187-95.
- 74 Davey ME, O'toole GA.** Microbial biofilms: from ecology to molecular genetics. *Microbiol Mol Biol Rev*. 2000 Dec;64(4):847-67.
- 75 de Pablo P, Chapple IL, Buckley CD, Dietrich T.** Periodontitis in systemic rheumatic diseases. *Nat Rev Rheumatol*. 2009 Apr;5(4):218-24.
- 76 de Pablo P, Dietrich T, McAlindon TE.** Association of periodontal disease and tooth loss with rheumatoid arthritis in the US population. *J Rheumatol* 2008, 35:70-76.
- 77 De Rossi A, Rocha LB, Rossi MA.** Interferon-gamma, interleukin-10, Intercellular adhesion molecule-1, and chemokine receptor 5, but not interleukin-4, attenuate the development of periapical lesions. *J Endod*. 2008 Jan; 34(1):31-8.
- 78 DeForge LE, Preston AM, Takeuchi E, Kenney J, Boxer LA, Remick DG.** Regulation of interleukin 8 gene expression by oxidant stress. *J Biol Chem*. 1993 Dec 5;268(34):25568-76.
- 79 Del Prete G, Maggi E, Parronchi P, Chrétien I, Tiri A, Macchia D, Ricci M, Banchereau J, De Vries J, Romagnani S.** IL-4 is an essential factor for the IgE synthesis induced in vitro by human T cell clones and their supernatants. *J Immunol*. 1988 Jun 15;140(12):4193-8.

- 80 Deng QD, Han Y, Xia X, Kuramitsu HK.** Effects of the oral spirochete *Treponema denticola* on interleukin-8 expression from epithelial cells. *Oral Microbiol Immunol.* 2001 Jun;16(3):185-7.
- 81 Deschner J, Eick S.** Ätiologie und Pathogenese der Parodontitis. *Zahnärztl. Mitt.* 2010 Mai 16;101(10):42-46.
- 82 DeStefano F, Anda RF, Kahn HS, Williamson DF, Russell CM.** Dental disease and risk of coronary heart disease and mortality. *BMJ.* 1993 Mar 13;306(6879):688-91.
- 83 Detert J, Pischon N, Burmester GR, Buttgereit F.** The association between rheumatoid arthritis and periodontal disease. *Arthritis Res Ther.* 2010;12(5):218. Epub 2010 Oct 22.
- 84 Diamanti-Kipioti A, Papapanou PN, Moraitaki-Tsami A, Lindhe J, Mitsis F.** Comparative estimation of periodontal conditions by means of different index systems. *J Clin Periodontol.* 1993 Oct;20(9):656-61.
- 85 Dias IH, Marshall L, Lambert PA, Chapple IL, Matthews JB, Griffiths HR.** Gingipains from *Porphyromonas gingivalis* increase the chemotactic and respiratory burst-priming properties of the 77-amino-acid interleukin-8 variant. *Infect Immun.* 2008 Jan;76(1):317-23. Epub 2007 Nov 19.
- 86 Dietrich T, Bernimoulin JP, Glynn RJ.** The effect of cigarette smoking on gingival bleeding. *J Periodontol.* 2004 Jan;75(1):16-22.
- 87 Dolgilevich S, Rafferty B, Luchinskaya D, Kozarov E.** Genomic comparison of invasive and rare non-invasive strains reveals *Porphyromonas gingivalis* genetic polymorphisms. *J Oral Microbiol.* 2011 Mar 9;3. doi:10.3402/jom.v3i0.5764.
- 88 Dongari-Bagtzoglou AI, Ebersole JL.** Increased presence of interleukin-6 (IL-6) and IL-8 secreting fibroblast subpopulations in adult periodontitis. *J Periodontol.* 1998 Aug;69(8):899-910.

- 89 Donlan RM, Costerton JW.** Biofilms: survival mechanisms of clinically relevant microorganisms. Clin Microbiol Rev. 2002 Apr;15(2):167-93.
- 90 Donnelly RP, Fenton MJ, Kaufman JD, Gerrard TL.** IL-1 expression in human monocytes is transcriptionally and posttranscriptionally regulated by IL-4. J Immunol 1991;146:3431-6.
- 91 Dresner-Pollak R, Gelb N, Rachmilewitz D, Karmeli F, Weinreb M.** Interleukin 10-deficient mice develop osteopenia, decreased bone formation, and mechanical fragility of long bones. Gastroenterology. 2004 Sep;127(3):792-801.
- 92 Dzink JL, Tanner AC, Haffajee AD, Socransky SS.** Gram negative species associated with active destructive periodontal lesions. J Clin Periodontol. 1985 Sep;12(8):648-59.

E

- 93 Ebersole JL, Schuster JL, Stevens J, Dawson D 3rd, Kryscio RJ, Lin Y, Thomas MV, Miller CS.** Patterns of salivary analytes provide diagnostic capacity for distinguishing chronic adult periodontitis from health. J Clin Immunol. 2013 Jan;33(1):271-9. doi:10.1007/s10875-012-9771-3. Epub 2012 Aug 29.
- 94 Eggert FM, McLeod MH, Flowerdew G.** Effects of smoking and treatment status on periodontal bacteria: evidence that smoking influences control of periodontal bacteria at the mucosal surface of the gingival crevice. J Periodontol. 2001 Sep;72(9):1210-20.
- 95 Elamin AM, Skaug N, Ali RW, Bakken V, Albandar JM.** Ethnic disparities in the prevalence of periodontitis among high school students in Sudan. J Periodontol. 2010 Jun;81(6):891-6. doi:10.1902/jop.2010.090709.

- 96** Elsana S, Sikuler E, Yaari A, Shemer-Avni Y, Abu-Shakra M, Buskila D, Katzman P, Naggan L, Margalith M. HCV antibodies in saliva and urine. *J Med Virol.* 1998 May;55(1):24-7.
- 97** Emmons W. Accuracy of oral specimen testing for human immunodeficiency virus. *Am J Med.* 1997 Apr;102:15-20.
- 98** Emrich LJ, Shlossman M, Genco RJ. Periodontal disease in non-insulin-dependent diabetes mellitus. *J Periodontol* 1991;62:123-130.
- 99** Erdemir EO, Duran I, Haliloglu S. Effects of smoking on clinical parameters and the gingival crevicular fluid levels of IL-6 and TNF-alpha in patients with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2004 Feb;31(2):99-104.
- 100** Eskan MA, Hajishengallis G, Kinane DF. Differential activation of human gingival epithelial cells and monocytes by *Porphyromonas gingivalis* fimbriae. *Infect Immun.* 2007 Feb;75(2):892-8. Epub 2006 Nov 21.
- 101** Evans KE, Fox SW. Interleukin-10 inhibits osteoclastogenesis by reducing NFATc1 expression and preventing its translocation to the nucleus. *BMC Cell Biol.* 2007 Jan 19;8:4.
- 102** Ezzo P, Cutler CW. Microorganisms as risk indicators for periodontal disease. *Periodontol.* 2000, 2003;32:24-35.

F

- 103** Federle MJ, Bassler BL. Interspecies communication in bacteria. *J Clin Invest.* 2003 Nov;112(9):1291-9.
- 104** Ferreira SB Jr, Trombone AP, Repeke CE, Cardoso CR, Martins W Jr, Santos CF, Trevilatto PC, Avila-Campos MJ, Campanelli AP, Silva JS, Garlet GP. An interleukin-1beta (IL-1beta) single-nucleotide polymorphism at position 3954 and red complex periodontopathogens independently and additively

modulate the levels of IL-1beta in diseased periodontal tissues Infect Immun. 2008 Aug;76(8):3725-34. Epub 2008 Jun 9.

- 105 Finkelman FD, Katona IM, Urban JF Jr, Holmes J, Ohara J, Tung AS, Sample JV, Paul WE.** IL-4 is required to generate and sustain in vivo IgE responses. J Immunol. 1988 Oct 1;141(7):2335-41.
- 106 Fives-Taylor PM, Meyer DH, Mintz KP, Brissette C.** Virulence factors of *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. Periodontol 2000. 1999 Jun;20:136-67.
- 107 Ford PJ, Gamonal J, Seymour GJ.** Immunological differences and similarities between chronic periodontitis and aggressive periodontitis. Periodontol 2000. 2010 Jun;53:111-23.
- 108 Frodge BD, Ebersole JL, Kryscio RJ, Thomas MV, Miller CS.** Bone remodeling biomarkers of periodontal disease in saliva. J Periodontol. 2008 Oct; 79(10):1913-9. doi:10.1902/jop.2008.080070.
- 109 Fu QY, Zhang L, Duan L, Qian SY, Pang HX.** Correlation of chronic periodontitis in tropical area and IFN- γ , IL-10, IL-17 levels. Asian Pac J Trop Med. 2013 Jun;6(6):489-92. doi:10.1016/S1995-7645(13)60080-2.
- 110 Fujihashi K1, Kono Y, Beagley KW, Yamamoto M, McGhee JR, Mestecky J, Kiyono H.** Cytokines and periodontal disease: immunopathological role of interleukins for B cell responses in chronic inflamed gingival tissues. J Periodontol. 1993 May;64(5 Suppl):400-6.
- 111 Fujise O, Hamachi T, Inoue K, Miura M, Maeda K.** Microbiological markers for prediction and assessment of treatment outcome following non-surgical periodontal therapy. J Periodontol. 2002 Nov;73:1253-1259.

G

- 112 Gaffen SL, Hajishengallis G.** A new inflammatory cytokine on the block: rethinking periodontal disease and the Th1/Th2 paradigm in the context of Th17 cells and IL-17. *J Dent Res.* 2008 Sep;87(9):817-28.
- 113 Gamonal J, Acevedo A, Bascones A, Jorge O, Silva A.** Levels of interleukin-1 beta, -8, and -10 and RANTES in gingival crevicular fluid and cell populations in adult periodontitis patients and the effect of periodontal treatment. *J Periodontol.* 2000 Oct;71(10):1535-45.
- 114 Garcia RI.** Smokers have less reductions in probing depth than non-smokers following nonsurgical periodontal therapy. *Evid Based Dent.* 2005;6(2):37-8.
- 115 Garlet GP, Cardoso CR, Mariano FS, Claudino M, de Assis GF, Campanelli AP, Avila-Campos MJ, Silva JS.** Regulatory T cells attenuate experimental periodontitis progression in mice. *J Clin Periodontol.* 2010 Jul;37(7):591-600.
- 116 Garlet GP, Martins W Jr, Fonseca BA, Ferreira BR, Silva JS.** Matrix metalloproteinases, their physiological inhibitors and osteoclast factors are differentially regulated by the cytokine profile in human periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 2004 Aug;31(8):671-9.
- 117 Geerts SO, Nys M, De MP, Charpentier J, Albert A, Legrand V, Rompen EH.** Systemic release of endotoxins induced by gentle mastication: association with periodontitis severity. *J Periodontol* 2002;73:73-78.
- 118 Gemmell E, Seymour GJ.** Immunoregulatory control of Th1/Th2 cytokine profiles in periodontal disease. *Periodontol 2000.* 2004;35:21-41.
- 119 Gemmell E, Yamazaki K, Seymour GJ.** Destructive periodontitis lesions are determined by the nature of the lymphocytic response. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2002;13(1):17-34.

- 120 George A, Shamim S, Johnson M, Ajwani S, Bhole S, Blinkhorn A, Ellis S, Andrews K.** Periodontal treatment during pregnancy and birth outcomes: a meta-analysis of randomised trials. *Int J Evid Based Healthc.* 2011 Jun;9(2):122-47. doi:10.1111/j.1744-1609.2011.00210.x.
- 121 Giannopoulou C, Kamma JJ, Mombelli A.** Effect of inflammation, smoking and stress on gingival crevicular fluid cytokine level. *J Clin Periodontol.* 2003 Feb;30(2):145-53.
- 122 Gibbons R, Martinez O, Matli M, Heinzl F, Bernstein M, Warren R.** Recombinant IL-4 inhibits IL-6 synthesis by adherent peripheral blood cells in vitro. *Lymphokine Res.* 1990 Fall;9(3):283-93.
- 123 Gomes-Filho IS, Cruz SS, Rezende EJ, Dos Santos CA, Soledade KR, Magalhães MA, de Azevedo AC, Trindade SC, Vianna MI, Passos Jde S, Cerqueira EM.** Exposure measurement in the association between periodontal disease and prematurity/low birth weight. *J Clin Periodontol.* 2007 Nov;34(11):957-63.
- 124 Gonçalves L da R, Soares MR, Nogueira FC, Garcia CH, Camisasca DR, Domont G, Feitosa AC, Pereira DA, Zingali RB, Alves G.** Analysis of the salivary proteome in gingivitis patients. *J Periodontol Res.* 2011 Oct;46(5):599-606. doi:10.1111/j.1600-0765.2011.01378.x. Epub 2011 Jun 14.
- 125 Goodson JM.** Gingival crevice fluid flow. *Periodontol 2000.* 2003;31:43-54.
- 126 Górska R, Nedzi-Góra M.** The effects of the initial treatment phase and of adjunctive low-dose doxycycline therapy on clinical parameters and MMP-8, MMP-9, and TIMP-1 levels in the saliva and peripheral blood of patients with chronic periodontitis. *Arch Immunol Ther Exp (Warsz).* 2006 Nov-Dec;54(6):419-26. Epub 2006 Nov 21.

- 127 Goutoudi P, Diza E, Arvanitidou M.** Effect of periodontal therapy on crevicular fluid interleukin-1beta and interleukin-10 levels in chronic periodontitis. *J Dent.* 2004 Sep;32(7):511-20.
- 128 Goutoudi P, Diza E, Arvanitidou M.** Effect of periodontal therapy on crevicular fluid interleukin-6 and interleukin-8 levels in chronic periodontitis. *Int J Dent.* 2012;2012:362905. Epub 2011 Oct 26.
- 129 Gravante G, Araco A, Sorge R, Araco F, Delogu D, Cervelli V.** Wound infections in post-bariatric patients undergoing body contouring abdominoplasty: the role of smoking. *Obes Surg.* 2007 Oct;17(10):1325-31.
- 130 Greene JC.** Oral Hygiene and Periodontal Disease. *Am J Public Health Nations Health.* Jun 1963;53(6):913-922.
- 131 Greenstein G, Hart TC.** Clinical utility of a genetic susceptibility test for severe chronic periodontitis. *J Am Dent Assoc* 2002;133:452-459.
- 132 Grossi SG, Zambon J, Machtei EE, Schifferle R, Andreana S, Genco RJ, Cummins D, Harrap G.** Effects of smoking and smoking cessation on healing after mechanical periodontal therapy. *J Am Dent Assoc.* 1997 May;128(5):599-607.
- 133 Grossi SG, Zambon JJ, Ho AW, Koch G, Dunford RG, Machtei EE, Norderyd OM, Genco RJ.** Assessment of risk for periodontal disease. I. Risk indicators for attachment loss. *J Periodontol.* 1994 Mar;65(3):260-7.
- 134 Güntsch A, Erler M, Preshaw PM, Sigusch BW, Klinger G, Glockmann E.** Effect of smoking on crevicular polymorphonuclear neutrophil function in periodontally healthy subjects. *J Periodontal Res.* 2006 Jun;41(3):184-8.
- 135 Guo Y, Nguyen KA, Potempa J.** Dichotomy of gingipains action as virulence factors: from cleaving substrates with the precision of a surgeon's knife to a meat

chopper-like brutal degradation of proteins. *Periodontol* 2000. 2010 Oct;54(1):15-44.

- 136 Gupta N, Gupta ND, Gupta A, Khan S, Bansal N.** Role of salivary matrix metalloproteinase-8 (MMP-8) in chronic periodontitis diagnosis. *Front Med*. 2014 Aug 6.
- 137 Gursoy UK, Könönen E, Pradhan-Palikhe P, Tervahartiala T, Pussinen PJ, Suominen-Taipale L, Sorsa T.** Salivary MMP-8, TIMP-1, and ICTP as markers of advanced periodontitis. *J Clin Periodontol*. 2010 Jun;37(6):487-93. doi: 10.1111/j.1600-051X.2010.01563.x.

H

- 138 Haas AN, Rösing CK, Oppermann RV, Albandar JM, Susin C.** Association among menopause, hormone replacement therapy, and periodontal attachment loss in southern Brazilian women. *J Periodontol*. 2009 Sep;80(9):1380-7. doi:10.1902/jop.2009.090082.
- 139 Haber J, Kent RL.** Cigarette smoking in a periodontal practice. *J Periodontol*. 1992 Feb;63(2):100-6.
- 140 Haffajee AD, Socransky SS, Goodson JM, Lindhe J.** Intraclass correlations of periodontal measurements. *J Clin Periodontol* 1985;12:216-224.
- 141 Haffajee AD, Socransky SS.** Attachment level changes in destructive periodontal diseases. *J Clin Periodontol* in destructive periodontal diseases. *J Clin Periodontol* 1986;13:461-475.
- 142 Haffajee AD, Socransky SS.** Microbial etiological agents of destructive periodontal diseases. *Periodontol* 2000. 1994 Jun;5:78-111.
- 143 Haffajee AD, Socransky SS.** Relationship of cigarette smoking to the subgingival microbiota. *J Clin Periodontol*. 2001 May;28(5):377-88.

- 144 Haigh BJ, Stewart KW, Whelan JR, Barnett MP, Smolenski GA, Wheeler TT.** Alterations in the salivary proteome associated with periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2010 Mar;37(3):241-7. doi:10.1111/j.1600-051X.2009.01525.x.
- 145 Haririan H, Andrukhov O, Pablik E, Neuhofer M, Moritz A, Rausch-Fan X.** Comparative Analysis of Calcium-Binding Myeloid-Related Protein-8/14 in Saliva and Serum of Patients With Periodontitis and Healthy Individuals. *J Periodontol.* 2016 Feb;87(2):184-92. doi: 10.1902/jop.2015.150254. Epub 2015 Oct 8.
- 146 Hajishengallis G, Wang M, Liang S, Shakhatreh MA, James D, Nishiyama S, Yoshimura F, Demuth DR.** Subversion of innate immunity by periodontopathic bacteria via exploitation of complement receptor-3. *Adv Exp Med Biol.* 2008;632:203-19.
- 147 Hajishengallis G.** Immune evasion strategies of *Porphyromonas gingivalis*. *J Oral Biosci.* 2011;53(3):233-240.
- 148 Hanioka T, Tanaka M, Takaya K, Matsumori Y, Shizukuishi S.** Pocket oxygen tension in smokers and non-smokers with periodontal disease. *J Periodontol.* 2000 Apr;71(4):550-4.
- 149 Haraszthy VI, Zambon JJ, Trevisan M, Zeid M, Genco RJ.** Identification of periodontal pathogens in atheromatous plaques. *J Periodontol.* 2000 Oct;71(10):1554-60.
- 150 Hart PH, Vitti GF, Burgess DR, Whitty GA, Piccoli DS, Hamilton JA.** Potential antiinflammatory effects of interleukin 4: suppression of human monocyte tumor necrosis factor alpha, interleukin 1, and prostaglandin E2. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 1989 May;86(10):3803-7.
- 151 Havemose-Poulsen A, Sørensen LK, Bendtzen K, Holmstrup P.** Polymorphisms within the IL-1 gene cluster: effects on cytokine profiles in peripheral blood and whole blood cell cultures of patients with aggressive

periodontitis, juvenile idiopathic arthritis, and rheumatoid arthritis. *J Periodontol*. 2007 Mar;78(3):475-92.

- 152 Heidemann D.** Praxis der Zahnheilkunde – Parodontologie Urban & Fischer Verlag / Elsevier GmbH 2005;4. Auflage:94
- 153 Heikkinen AM, Pitkäniemi J, Kari K, Pajukanta R, Elonheimo O, Koskenvuo M, Meurman JH.** Effect of teenage smoking on the prevalence of periodontal bacteria. *Clin Oral Investig*. 2012 Apr;16(2):571-80. doi:10.1007/s00784-011-0521-3. Epub 2011 Feb 22.
- 154 Henderson B, Nair SP, Ward JM, Wilson M.** Molecular pathogenicity of the oral opportunistic pathogen *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Annu Rev Microbiol*. 2003;57:29-55.
- 155 Hennig BJ, Parkhill JM, Chapple IL, Heasman PA, Taylor JJ.** Dinucleotide repeat polymorphism in the interleukin-10 gene promoter (IL-10.G) and genetic susceptibility to early-onset periodontal disease. *Genes Immun*. 2000 Aug;1(6):402-4.
- 156 Holm G, Martinsson T.** The Swedish National Dental Insurance's periodontal diagnosis. Used on an individual level. *Swed Dent J*. 1998;22(1-2):77-84.
- 157 Holt SC, Ebersole JL.** *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia*: the "red complex", a prototype polybacterial pathogenic consortium in periodontitis. *Periodontol* 2000. 2005;38:72-122.
- 158 Holtfreter B, Schwahn C, Biffar R, Kocher T.** Epidemiology of periodontal diseases in the Study of Health in Pomerania. *J Clin Periodontol*. 2009 Feb;36(2):114-23. doi:10.1111/j.1600-051X.2008.01361.x.
- 159 Hölttä P, Alaluusua S, Saarela M, Asikainen S.** Isolation frequency and serotype distribution of mutans streptococci and *Actinobacillus*

actinomycetemcomitans, and clinical periodontal status in Finnish and Vietnamese children. Scand J Dent Res. 1994 Apr;102(2):113-9.

- 160 Huang GT, Haake SK, Kim JW, Park NH.** Differential expression of interleukin-8 and intercellular adhesion molecule-1 by human gingival epithelial cells in response to Actinobacillus actinomycetemcomitans or Porphyromonas gingivalis infection. Oral Microbiol Immunol. 1998 Oct;13(5):301-9.
- 161 Huang GT, Haake SK, Park NH.** Gingival epithelial cells increase interleukin-8 secretion in response to Actinobacillus actinomycetemcomitans challenge. J Periodontol. 1998 Oct;69(10):1105-10.
- 162 Huang GT, Kim D, Lee JK, Kuramitsu HK, Haake SK.** Interleukin-8 and intercellular adhesion molecule 1 regulation in oral epithelial cells by selected periodontal bacteria: multiple effects of Porphyromonas gingivalis via antagonistic mechanisms. Infect Immun. 2001 Mar;69(3):1364-72.
- 163 Humphrey LL, Fu R, Buckley DI, Freeman M, Helfand M.** Periodontal disease and coronary heart disease incidence: a systematic review and meta-analysis. J Gen Intern Med. 2008 Dec;23(12):2079-86. Epub 2008 Sep 20.
- 164 Huynh-Ba G, Lang NP, Tonetti MS, Salvi GE.** The association of the composite IL-1 genotype with periodontitis progression and/or treatment outcomes: a systematic review. J Clin Periodontol 2007;34:305-317.
- 165 Hyman JJ, Reid BC.** Epidemiologic risk factors for periodontal attachment loss among adults in the United States. J Clin Periodontol. 2003 Mar;30(3):230-7.
- I**
- 166 Ingman T, Tervahartiala T, Ding Y, Tschesche H, Haerian A, Kinane DF, Konttinen YT, Sorsa T.** Matrix metalloproteinases and their inhibitors in gingival

crevicular fluid and saliva of periodontitis patients. J Clin Periodontol. 1996 Dec; 23(12):1127-32.

- 167 Ishihara K, Nabuchi A, Ito R, Miyachi K, Kuramitsu HK, Okuda K.** Correlation between detection rates of periodontopathic bacterial DNA in coronary stenotic artery plaque [corrected] and in dental plaque samples. J Clin Microbiol. 2004 Mar;42(3):1313-5.
- 168 Ishihara K.** Virulence factors of *Treponema denticola*. Periodontol 2000. 2010 Oct;54(1):117-35.
- 169 Ishikawa I, Nakashima K, Koseki T, Nagasawa T, Watanabe H, Arakawa S, Nitta H, Nishihara T.** Induction of the immune response to periodontopathic bacteria and its role in the pathogenesis of periodontitis. Periodontol 2000. 1997 Jun;14:79-111.
- 170 Ito K, Hanazawa T, Tomita K, Barnes PJ, Adcock IM.** Oxidative stress reduces histone deacetylase 2 activity and enhances IL-8 gene expression: role of tyrosine nitration. Biochem Biophys Res Commun. 2004 Feb 27;315(1):240-5.
- 171 Ivison SM, Wang C, Himmel ME, Sheridan J, Delano J, Mayer ML, Yao Y, Kifayet A, Steiner TS.** Oxidative stress enhances IL-8 and inhibits CCL20 production from intestinal epithelial cells in response to bacterial flagellin. Am J Physiol Gastrointest Liver Physiol. 2010 Sep;299(3):G733-41. Epub 2010 Jul 1.
- 172 Izadi Borujeni S, Mayer M, Eickholz P.** Activated matrix metalloproteinase-8 in saliva as diagnostic test for periodontal disease? A case-control study. Med Microbiol Immunol. 2015 Apr 5. [Epub ahead of print]

J

- 173 Janket SJ, Baird AE, Chuang SK, Jones JA.** Meta-analysis of periodontal disease and risk of coronary heart disease and stroke. *Oral Surg Oral Med Oral Pathol Oral Radiol Endod.* 2003 May;95(5):559-69.
- 174 Jansson L, Lavstedt S.** Influence of smoking on marginal bone loss and tooth loss--a prospective study over 20 years. *J Clin Periodontol.* 2002 Aug;29(8):750-6.
- 175 Jaradat SM, Ababneh KT, Jaradat SA, Abbadi MS, Taha AH, Karasneh JA, Haddad HI.** Association of interleukin-10 gene promoter polymorphisms with chronic and aggressive periodontitis. *Oral Dis.* 2012 Apr;18(3):271-9. doi: 10.1111/j.1601-0825.2011.01872.x. Epub 2011 Nov 14.
- 176 Javed F, Ahmed HB, Saeed A, Mehmood A, Bain C.** Whole salivary interleukin-6 and matrix metalloproteinase-8 levels in patients with chronic periodontitis with and without prediabetes. *J Periodontol.* 2014 May;85(5):e130-5. doi:10.1902/jop.2013.130514. Epub 2013 Oct 30.
- 177 Jeffcoat M, Parry S, Sammel M, Clothier B, Catlin A, Macones G.** Periodontal infection and preterm birth: successful periodontal therapy reduces the risk of preterm birth. *BJOG.* 2011 Jan;118(2):250-6. doi:10.1111/j.1471-0528.2010.02713.x. Epub 2010 Sep 14.
- 178 Jeffcoat MK, Hauth JC, Geurs NC, Reddy MS, Cliver SP, Hodgkins PM, Goldenberg RL.** Periodontal disease and preterm birth: results of a pilot intervention study. *J Periodontol.* 2003 Aug;74(8):1214-8.
- 179 Jeffcoat MK, Reddy MS.** Advances in measurements of periodontal bone and attachment loss. *Monogr in Oral Sci* 2000;17:56-72.
- 180 Jenkins K, Javadi M, Borghaei RC.** Interleukin-4 suppresses IL-1-induced expression of matrix metalloproteinase-3 in human gingival fibroblasts. *J Periodontol.* 2004 Feb;75(2):283-91.

- 181 Jeppesen DL, Nielsen SD, Ersbøll AK, Valerius NH.** Maternal smoking during pregnancy increases the risk of postnatal infections in preterm neonates. *Neonatology*. 2008;94(2):75-8. doi:10.1159/000113535. Epub 2008 Jan 22.
- 182 Jin L, Söder B, Corbet EF.** Interleukin-8 and granulocyte elastase in gingival crevicular fluid in relation to periodontopathogens in untreated adult periodontitis. *J Periodontol*. 2000 Jun;71(6):929-39.
- 183 Johnson GK, Guthmiller JM.** The impact of cigarette smoking on periodontal disease and treatment. *Periodontol 2000*. 2007;44:178-94.
- 184 Jordan RA, Lucaciu A, Fotouhi K, Markovic L, Gaengler P, Zimmer S.** Pilot pathfinder survey of oral hygiene and periodontal conditions in the rural population of The Gambia (West Africa). *Int J Dent Hyg*. 2011 Feb;9(1):53-9. doi: 10.1111/j.1601-5037.2009.00435.x.
- 185 Joshipura KJ, Rimm EB, Douglass CW, Trichopoulos D, Ascherio A, Willett WC.** Poor oral health and coronary heart disease. *J Dent Res*. 1996 Sep;75(9):1631-6.

K

- 186 Kaldahl WB, Johnson GK, Patil KD, Kalkwarf KL.** Levels of cigarette consumption and response to periodontal therapy. *J Periodontol*. 1996 Jul;67(7):675-81.
- 187 Kanda T, Hirao Y, Oshima S, Yuasa K, Taniguchi K, Nagai R, Kobayashi I.** Interleukin-8 as a sensitive marker of unstable coronary artery disease. *Am J Cardiol*. 1996 Feb 1;77(4):304-7.
- 188 Kaner D, Bernimoulin JP, Dietrich T, Kleber BM, Friedmann A.** Calprotectin levels in gingival crevicular fluid predict disease activity in patients treated for generalized aggressive periodontitis. *J Periodontal Res*. 2011 Aug;46(4):417-26.

doi: 10.1111/j.1600-0765.2011.01355.x. Epub 2011 Apr 13.

- 189 Karim AY, Kulczycka M, Kantyka T, Dubin G, Jabaiah A, Daugherty PS, Thogersen IB, Enghild JJ, Nguyen KA, Potempa J.** A novel matrix metalloprotease-like enzyme (karilysin) of the periodontal pathogen *Tannerella forsythia* ATCC 43037. *Biol Chem.* 2010 Jan;391(1):105-17.
- 190 Kawashima K, Ishihara S, Yuki T, Fukuba N, Oshima N, Kazumori H, Sonoyama H, Yamashita N, Tada Y, Kusunoki R, Oka A, Mishima Y, Moriyama I, Kinoshita Y.** Fecal calprotectin level correlated with both endoscopic severity and disease extent in ulcerative colitis. *BMC Gastroenterol.* 2016 Apr 12;16(1):47. doi: 10.1186/s12876-016-0462-z.
- 191 Kebschull M, Demmer R, Behle JH, Pollreis A, Heidemann J, Belusko PB, Celenti R, Pavlidis P, Papapanou PN.** Granulocyte chemotactic protein 2 (gcp-2/cxcl6) complements interleukin-8 in periodontal disease. *J Periodontal Res.* 2009 Aug;44(4):465-71. doi:10.1111/j.1600-0765.2008.01134.x. Epub 2008 Oct 7.
- 192 Kebschull M, Demmer RT, Papapanou PN.** "Gum bug, leave my heart alone!"--epidemiologic and mechanistic evidence linking periodontal infections and atherosclerosis. *J Dent Res.* 2010 Sep;89(9):879-902. Epub 2010 Jul 16.
- 193 Khader YS, Dauod AS, El-Qaderi SS, Alkafajei A, Batayha WQ.** Periodontal status of diabetics compared with nondiabetics: a meta-analysis. *J Diabetes Complications* 2006;20:59-68.
- 194 Kido J, Kido R, Suryono, Kataoka M, Fagerhol MK, Nagata T.** Induction of calprotectin release by *Porphyromonas gingivalis* lipopolysaccharide in human neutrophils. *Oral Microbiol Immunol.* 2004 Jun;19(3):182-7.
- 195 Kimura A, Kishimoto T.** IL-6: regulator of Treg/Th17 balance. *Eur J Immunol.* 2010 Jul;40(7):1830-5. doi:10.1002/eji.201040391.

- 196 Kinane DF, Chestnutt IG.** Smoking and periodontal disease. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2000;11(3):356-65.
- 197 Kinane DF, Darby IB, Said S, Luoto H, Sorsa T, Tikanoja S, Mäntylä P.** Changes in gingival crevicular fluid matrix metalloproteinase-8 levels during periodontal treatment and maintenance. *J Periodontal Res.* 2003 Aug;38(4):400-4.
- 198 Kinane DF, Shiba H, Hart TC.** The genetic basic of periodontitis. *Periodontol* 2000. 2005;39:91- 117
- 199 Kinane DF.** Causation and Pathogenesis of Periodontal Disease. *Periodontology* 2000. 2001;25:8-20
- 200 Kinane DF.** Regulators of tissue destruction and homeostasis as diagnostic aids in periodontology. *Periodontology* 2000; 2000;24, 215-225.
- 201 Kinane DF1, Hart TC.** Genes and gene polymorphisms associated with periodontal disease. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2003;14(6):430-49.
- 202 Kiran M, Arpak N, Unsal E, Erdoğan MF.** The effect of improved periodontal health on metabolic control in type 2 diabetes mellitus. *J Clin Periodontol.* 2005 Mar;32(3):266-72.
- 203 Kocher T, Schwahn C, Gesch D, Bernhardt O, John U, Meisel P, Baelum V.** Risk determinants of periodontal disease--an analysis of the Study of Health in Pomerania (SHIP 0). *J Clin Periodontol.* 2005 Jan;32(1):59-67.
- 204 Konopka L, Pietrzak A, Brzezińska-Błaszczyk E.** Effect of scaling and root planing on interleukin-1 β , interleukin-8 and MMP-8 levels in gingival crevicular fluid from chronic periodontitis patients. *J Periodontal Res.* 2012 Apr 18. doi: 10.1111/j.1600-0765.2012.01480.x. [Epub ahead of print]
- 205 Kornman KS, Crane A, Wang HY, di Giovine FS, Newman MG, Pirk FW, Wilson TG Jr, Higginbottom FL, Duff GW.** The interleukin-1 genotype as a

severity factor in adult periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 1997 Jan;24(1):72-7.

206 Kornman KS, Page RC, Tonetti MS. The host response to the microbial challenge in periodontitis: assembling the players. *Periodontol 2000.* 1997 Jun;14:33-53.

207 Koss MA, Castro CE, Carino S, López ME. Histopathologic and histomorphometric studies and determination of IL-8 in patients with periodontal disease. *J Indian Soc Periodontol.* 2014 Mar;18(2):145-9. doi: 10.4103/0972-124X.131307.

208 Kozarov EV, Dorn BR, Shelburne CE, Dunn WA Jr, Progulske-Fox A. Human atherosclerotic plaque contains viable invasive *Actinobacillus actinomycetemcomitans* and *Porphyromonas gingivalis*. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2005 Mar;25(3):e17-8. Epub 2005 Jan 20.

209 Koziel J, Karim AY, Przybyszewska K, Ksiazek M, Rapala-Kozik M, Nguyen KA, Potempa J. Proteolytic inactivation of LL-37 by karilysin, a novel virulence mechanism of *Tannerella forsythia*. *J Innate Immun.* 2010;2(3):288-93.

210 Kucharzik T, Stoll R, Lügering N, Domschke W. Circulating antiinflammatory cytokine IL-10 in patients with inflammatory bowel disease (IBD). *Clin Exp Immunol.* 1995 Jun;100(3):452-6.

L

211 Lagervall M, Jansson L, Bergström J. Systemic disorders in patients with periodontal disease. *J Clin Periodontol* 2003, 30:293-299.

212 Laine ML, Farré MA, González G, van Dijk LJ, Ham AJ, Winkel EG, Crusius JB, Vandenbroucke JP, van Winkelhoff AJ, Peña AS. Polymorphisms

of the interleukin-1 gene family, oral microbial pathogens, and smoking in adult periodontitis J Dent Res. 2001 Aug;80(8):1695-9.

- 213 Lalla E, Cheng B, Lal S, Kaplan S, Softness B, Greenberg E, Goland R, Lamster I.** Diabetes-related parameters and periodontal conditions in children. J Periodontal Res 2007;42:345-349.
- 214 Lamster IB, Kaufman E, Grbic JT, Winston LJ, Singer RE.** Beta-glucuronidase activity in saliva: relationship to clinical periodontal parameters. J Periodontol. 2003 Mar;74(3):353-9.
- 215 Lang NP, Adler R, Joss A, Nyman S.** Absence of bleeding on probing - An indicator of periodontal stability. J Clin Periodontol 1990;17:714-721
- 216 Lang NP, Joss A, Orsanic T, Gusberti FA, Siegrist BE.** Bleeding on probing. A predictor for the progression of periodontal disease? J Clin Periodontol. 1986 Jul; 13(6):590-6.
- 217 Lappin DF, MacLeod CP, Kerr A, Mitchell T, Kinane DF.** Anti-inflammatory cytokine IL-10 and T cell cytokine profile in periodontitis granulation tissue. Clin Exp Immunol. 2001 Feb;123(2):294-300.
- 218 Lauener RP, Goyert SM, Geha RS, Vercelli D.** Interleukin 4 down-regulates the expression of CD14 in normal human monocytes. Eur J Immunol. 1990 Nov; 20(11):2375-81.
- 219 Lee JM, Garon E, Wong DT.** Salivary diagnostics. Orthod Craniofac Res. 2009 Aug;12(3):206-11. doi:10.1111/j.1601-6343.2009.01454.x.
- 220 Levings MK, Schrader JW.** IL-4 inhibits the production of TNF-alpha and IL-12 by STAT6-dependent and -independent mechanisms. J Immunol. 1999 May 1;162(9):5224-9.

- 221 Li L, Michel R, Cohen J, Decarlo A, Kozarov E.** Intracellular survival and vascular cell-to-cell transmission of *Porphyromonas gingivalis*. *BMC Microbiol.* 2008 Feb 6;8:26. doi:10.1186/1471-2180-8-26.
- 222 Li QY, Zhao HS, Meng HX, Zhang L, Xu L, Chen ZB, Shi D, Feng XH, Zhu XL.** Association analysis between interleukin-1 family polymorphisms and generalized aggressive periodontitis in a Chinese population. *J Periodontol.* 2004 Dec;75(12):1627-35.
- 223 Liang S, Krauss JL, Domon H, McIntosh ML, Hosur KB, Qu H, Li F, Tzekou A, Lambris JD, Hajishengallis G.** The C5a receptor impairs IL-12-dependent clearance of *Porphyromonas gingivalis* and is required for induction of periodontal bone loss. *J Immunol.* 2011 Jan 15;186(2):869-77. Epub 2010 Dec 13.
- 224 Lim LP, Tay FB, Sum CF, Thai AC.** Relationship between markers of glycemic control and inflammation on severity of periodontal disease in patients with diabetes mellitus. *J Clin Periodontol* 2007;34:118-123.
- 225 Lin L, Li C, Liu J, Zhang D, Zhao J, Kou Y, Yu N, Pan Y.** Virulence genes of *Porphyromonas gingivalis* W83 in chronic periodontitis. *Acta Odontol Scand* 2009, 67:289-296.
- 226 Linden GJ, Mullally BH.** Cigarette smoking and periodontal destruction in young adults. *J Periodontol.* 1994 Jul;65(7):718-23.
- 227 Lindhe J, Haffajee AD, Socransky SS.** Progression of periodontal disease in adult subjects in the absence of periodontal therapy. *J Clin Periodontol* 1983;10:433-442.
- 228 Lockhart PB, Brennan MT, Sasser HC, Fox PC, Paster BJ, Bahrani-Mougeot FK.** Bacteremia associated with toothbrushing and dental extraction. *Circulation.* 2008 Jun 17;117(24):3118-25. Epub 2008 Jun 9.

- 229 Løe H, Theilade E, Jensen SB.** Experimental gingivitis in man. *J Periodontol* 1965 May-Jun;36:177-87.
- 230 Løe, H., A. Anerud, Boysen H, Morrison E.** (1986). "Natural history of periodontal disease in man. Rapid, moderate and no loss of attachment in Sri Lankan laborers 14 to 46 years of age." *J Clin Periodontol*. 1986 May;13(5):431-45.
- 231 Loesche WJ, Kazor CE, Taylor GW.** The optimization of the BANA test as a screening instrument for gingivitis among subjects seeking dental treatment. *J Clin Periodontol*. 1997 Oct;24(10):718-26.
- 232 Loesche WJ, Lopatin DE, Giordano J, Alcoforado G, Hujoel P.** Comparison of the benzoyl-DL-arginine-naphthylamide (BANA) test, DNA probes, and immunological reagents for ability to detect anaerobic periodontal infections due to *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Bacteroides forsythus*. *J Clin Microbiol*. 1992 Feb;30(2):427-33.
- 233 Loesche WJ, Syed SA.** Bacteriology of human experimental gingivitis: effect of plaque and gingivitis score. *Infect Immun*. 1978 Sep;21(3):830-9.
- 234 López NJ, Jara L, Valenzuela CY.** Association of interleukin-1 polymorphisms with periodontal disease *J Periodontol*. 2005 Feb;76(2):234-43
- 235 Lucas VS, Gafan G, Dewhurst S, Roberts GJ.** Prevalence, intensity and nature of bacteraemia after toothbrushing. *J Dent*. 2008 Jul;36(7):481-7. Epub 2008 May 2.
- 236 Lundy FT, Chalk R, Lamey PJ, Shaw C, Linden GJ.** Quantitative analysis of MRP-8 in gingival crevicular fluid in periodontal health and disease using microbore HPLC. *J Clin Periodontol*. 2001 Dec;28(12):1172-7.

M

- 237 Macheleidt A, Müller HP, Eger T, Putzker M, Zöller L.** Clonal diversity of *Actinobacillus actinomycetemcomitans* isolates from young adults with minimal periodontal disease. *J Periodontal Res.* 1999 May;34(4):179-87.
- 238 Malamud D, Rodriguez-Chavez IR.** Saliva as a Diagnostic Fluid. *Dent Clin North Am.* 2011 Jan;55(1):159-178. doi:10.1016/j.cden.2010.08.004.
- 239 Malamud D.** Oral diagnostic testing for detecting human immunodeficiency virus-1 antibodies: A technology whose time has come. *Am J Med.* 1997 Apr; 102(4A):9-14.
- 240 Mangan DF, Robertson B, Wahl SM.** IL-4 enhances programmed cell death (apoptosis) in stimulated human monocytes. *J Immunol.* 1992 Mar 15;148(6): 1812-6.
- 241 Manhart SS, Reinhardt RA, Payne JB, Seymour GJ, Gemmell E, Dyer JK, Petro TM.** Gingival cell IL-2 and IL-4 in early-onset periodontitis. *J Periodontol.* 1994 Sep;65(9):807-13.
- 242 Mäntylä P, Stenman M, Kinane DF, Tikanoja S, Luoto H, Salo T, Sorsa T.** Gingival crevicular fluid collagenase-2 (MMP-8) test stick for chair-side monitoring of periodontitis. *J Periodontal Res.* 2003 Aug;38(4):436-9.
- 243 Marchetti P, Benzi L, Masoni A, Cecchetti P, Giannarelli R, Di Cianni G, Ciccarone AM, Navalesi R.** Salivary insulin concentrations in type 2 (non-insulin-dependent) diabetic patients and obese non-diabetic subjects: Relationship to changes in plasma insulin levels after an oral glucose load. *Diabetologia.* 1986 Oct;29(10):695-8
- 244 Marsh PD.** Dental plaque: biological significance of a biofilm and community life-style. *J Clin Periodontol.* 2005;32 Suppl 6:7-15.

- 245 Marshall JD, Secrist H, DeKruyff RH, Wolf SF, Umetsu DT.** IL-12 inhibits the production of IL-4 and IL-10 in allergen-specific human CD4⁺ T lymphocytes. *J Immunol.* 1995 Jul 1;155(1):111-7.
- 246 Mathur A, Michalowicz B, Castillo M, Aeppli D.** Interleukin-1 alpha, interleukin-8 and interferon-alpha levels in gingival crevicular fluid. *J Periodontal Res.* 1996 Oct;31(7):489-95.
- 247 Mattila KJ, Valtonen VV, Nieminen M, Huttunen JK.** Dental infection and the risk of new coronary events: prospective study of patients with documented coronary artery disease. *Clin Infect Dis.* 1995 Mar;20(3):588-92.
- 248 Mattout C, Bourgeois D, Bouchard P.** Type 2 diabetes and periodontal indicators: epidemiology in France 2002-2003. *J Periodontal Res* 2006;41:253-258.
- 249 McDevitt MJ, Wang HY, Knobelman C, Newman MG, di Giovine FS, Timms J, Duff GW, Kornman KS.** Interleukin-1 genetic association with periodontitis in clinical practice. *J Periodontol.* 2000 Feb;71(2):156-63
- 250 McGuire MK, Nunn ME.** Prognosis versus actual outcome. IV. The effectiveness of clinical parameters and IL-1 genotype in accurately predicting prognoses and tooth survival. *J Periodontol.* 1999 Jan;70(1):49-56.
- 251 Méndez-Samperio P, García E, Vázquez A, Palma J.** Regulation of interleukin-8 by interleukin-10 and transforming growth factor beta in human monocytes infected with mycobacterium bovis. *Clin Diagn Lab Immunol.* 2002 Jul;9(4):802-7.
- 252 Mercado FB, Marshall RI, Klestov AC, Bartold PM.** Relationship between rheumatoid arthritis and periodontitis. *J Periodontol* 2001, 72:779-787.
- 253 Meurman JH, Sanz M, Janket SJ.** Oral health, atherosclerosis, and cardiovascular disease. *Crit Rev Oral Biol Med.* 2004 Nov 1;15(6):403-13.

- 254 Michalowicz BS, Aeppli D, Virag JG, Klump DG, Hinrichs JE, Segal NL, Bouchard TJ Jr., Pihlström BL.** Periodontal findings in adult twins. *J Periodontol.* 1991 May;62(5), 293-299.
- 255 Micheelis W et Reich E.** Dritte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS III) - Ergebnisse, Trends und Problemanalysen auf der Grundlage bevölkerungsrepräsentativer Stichproben in Deutschland 1997 Deutscher Zahnärzte Verlag 1999.
- 256 Micheelis W et Schiffner U.** Vierte Deutsche Mundgesundheitsstudie (DMS IV) - Neue Ergebnisse zu oralen Erkrankungsprävalenzen, Risikogruppen und zum zahnärztlichen Versorgungsgrad in Deutschland 2005. Deutscher Zahnärzte Verlag 2006
- 257 Miller CS, Foley JD, Bailey AL, Campell CL, Humphries RL, Christodoulides N, Floriano PN, Simmons G, Bhagwandin B, Jacobson JW, Redding SW, Ebersole JL, McDevitt JT.** Current developments in salivary diagnostics. *Biomark Med.* 2010 Feb;4(1):171-89.
- 258 Miller CS, King CP Jr, Langub MC, Kryscio RJ, Thomas MV.** Salivary biomarkers of existing periodontal disease: a cross-sectional study. *J Am Dent Assoc.* 2006 Mar;137(3):322-9.
- 259 Mineoka T, Awano S, Rikimaru T, Kurata H, Yoshida A, Ansai T, Takehara T.** Site-specific development of periodontal disease is associated with increased levels of *Porphyromonas gingivalis*, *Treponema denticola*, and *Tannerella forsythia* in subgingival plaque. *J Periodontol.* 2008 Apr;79(4):670-6.
- 260 Mitchell RG, Gillespie WA.** Bacterial endocarditis due to an actinobacillus. *J Clin Pathol.* 1964 Sep;17:511-2.
- 261 Mobeen N, Jehan I, Banday N, Moore J, McClure EM, Pasha O, Wright LL, Goldenberg RL.** Periodontal disease and adverse birth outcomes: a study from Pakistan. *Am J Obstet Gynecol.* 2008 May;198(5):514.e1-8

- 262 Moore KW, O'Garra A, de Waal Malefyt R, Vieira P, Mosmann TR.** Interleukin-10. *Annu Rev Immunol.* 1993;11:165-90.
- 263 Moore WE, Holdeman LV, Smibert RM, Good I J, Burmeister JA, Palcanis KG et Ranney RR.** Bacteriology of experimental gingivitis in young adult humans. *Infect. Immunity* 38:651-67. 1982.
- 264 Moore WE, Moore LV.** The bacteria of periodontal diseases. *Periodontol* 2000. 1994 Jun;5:66-77.
- 265 Morrison HI, Ellison LF, Taylor GW.** Periodontal disease and risk of fatal coronary heart and cerebrovascular diseases. *J Cardiovasc Risk.* 1999 Feb;6(1):7-11.
- 266 Mosmann TR, Sad S.** The expanding universe of T-cell subsets: Th1, Th2 and more. *Immunol Today.* 1996 Mar;17(3):138-46.
- 267 Moutsopoulos NM, Kling HM, Angelov N, Jin W, Palmer RJ, Nares S, Osorio M, Wahl SM.** Porphyromonas gingivalis promotes Th17 inducing pathways in chronic periodontitis. *J Autoimmun.* 2012 May 3.
- 268 Mullally BH.** The influence of tobacco smoking on the onset of periodontitis in young persons. *Tob Induc Dis.* 2004 Jun 15;2(2):53-65. doi: 10.1186/1617-9625-2-2-53.
- 269 Müller M, Ulm RM, Ulm C, Seemann R et Matejka MH.** Parodontalpathogene Mikroorganismen und deren mögliche Auswirkungen auf bestehende Schwangerschaften. *Stomatologie* (2008) 105:1-6.

N

- 270 Nabet C, Lelong N, Colombier ML, Sixou M, Musset AM, Goffinet F, Kaminski M; Epipap Group.** Maternal periodontitis and the causes of preterm birth: the case-control Epipap study. *J Clin Periodontol.* 2010 Jan;37(1):37-45.

- 271 Nakashima K, Kobayashi T, Yoshihara A, Fujiwara J, Miyazaki H, Kowashi Y.** Periodontal conditions in an elderly Japanese population influenced by smoking status and serum immunoglobulin G2 levels. *J Periodontol.* 2005 Apr; 76(4):582-9.
- 272 Napimoga MH, Nunes LH, Maciel AA, Demasi AP, Benatti BB, Santos VR, Bastos MF, de Miranda TS, Duarte PM.** Possible involvement of IL-21 and IL-10 on salivary IgA levels in chronic periodontitis subjects. *Scand J Immunol.* 2011 Dec;74(6):596-602. doi:10.1111/j.1365-3083.2011.02605.x.
- 273 Nares S.** The genetic relationship to periodontal disease. *Periodontol* 2000. 2003;32:36-49.
- 274 Nassrawin NA.** Effect of smoking on the response to nonsurgical periodontal therapy. *East Mediterr Health J.* 2010 Feb;16(2):162-5.
- 275 Ng PY, Donley M, Hausmann E, Hutson AD, Rossomando EF, Scannapieco FA.** Candidate salivary biomarkers associated with alveolar bone loss: cross-sectional and in vitro studies. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2007 Mar;49(2): 252-60.
- 276 NHANES III - Third National Health and Nutrition Examination Survey,** 1988-94. Hyattsville, MD: Centers for Disease Control;1997. Public use data file no. 7-0627.
- 277 Niiro H, Otsuka T, Tanabe T, Hara S, Kuga S, Nemoto Y, Tanaka Y, Nakashima H, Kitajima S, Abe M, et al.** Inhibition by interleukin-10 of inducible cyclooxygenase expression in lipopolysaccharide-stimulated monocytes: its underlying mechanism in comparison with interleukin-4. *Blood.* 1995 Jun 15;85(12):3736-45.

O

- 278 O'Farrell AM, Liu Y, Moore KW, Mui AL.** IL-10 inhibits macrophage activation and proliferation by distinct signaling mechanisms: evidence for Stat3-dependent and -independent pathways. *EMBO J.* 1998 Feb 16;17(4):1006-18.
- 279 Offenbacher S, Boggess KA, Murtha AP, Jared HL, Lieff S, McKaig RG, Mauriello SM, Moss KL, Beck JD.** Progressive periodontal disease and risk of very preterm delivery. *Obstet Gynecol.* 2006 Jan;107(1):29-36.
- 280 Offenbacher S, Lin D, Strauss R, McKaig R, Irving J, Barros SP, Moss K, Barrow DA, Hefti A, Beck JD.** Effects of periodontal therapy during pregnancy on periodontal status, biologic parameters, and pregnancy outcomes: a pilot study. *J Periodontol.* 2006 Dec;77(12):2011-24
- 281 Ohara M, Oswald E, Sugai M.** Cytolethal distending toxin: a bacterial bullet targeted to nucleus. *J Biochem.* 2004 Oct;136(4):409-13.
- 282 Ohlrich EJ, Cullinan MP, Seymour GJ.** The immunopathogenesis of periodontal disease. *Aust Dent J.* 2009 Sep;54 Suppl 1:S2-10.
- 283 Ohlsson M, Rosengren M, Tegner H, Ohlsson K.** Quantification of granulocyte elastase inhibitors in human mixed saliva and in pure parotid secretion. *Hoppe Seylers Z Physiol Chem.* 1983 Sep;364(9):1323-8.
- 284 Okuda K, Ishihara K, Nakagawa T, Hirayama A, Inayama Y, Okuda K.** Detection of *Treponema denticola* in atherosclerotic lesions. *J Clin Microbiol.* 2001 Mar;39(3):1114-7.
- 285 Orozco A, Gemmell E, Bickel M, Seymour GJ.** Interleukin-1beta, interleukin-12 and interleukin-18 levels in gingival fluid and serum of patients with gingivitis and periodontitis. *Oral Microbiol Immunol.* 2006 Aug;21(4):256-60.

- 286 Ortiz P, Bissada NF, Palomo L, Han YW, Al-Zahrani MS, Panneerselvam A, Askari A.** Periodontal therapy reduces the severity of active rheumatoid arthritis in patients treated with or without tumor necrosis factor inhibitors. *J Periodontol.* 2009 Apr;80(4):535-40. doi:10.1902/jop.2009.080447.
- 287 Osman TA, Costea DE, Johannessen AC.** The use of salivary cytokines as a screening tool for oral squamous cell carcinoma: A review of the literature. *J Oral Maxillofac Pathol.* 2012 May;16(2):256-61. doi:10.4103/0973-029X.99083.

P

- 288 Page RC, Eke PI.** Case definitions for use in population-based surveillance of Periodontitis. *Journal of Periodontology* 2007;78(7):1387-99 Review.
- 289 Page RC.** Current understanding of the aetiology and progression of periodontal disease. *Int Dent J.* 1986 Sep;36(3):153-61.
- 290 Palmer RM, Wilson RF, Hasan AS, Scott DA.** Mechanisms of action of environmental factors--tobacco smoking. *J Clin Periodontol.* 2005;32 Suppl 6:180-95.
- 291 Papapanou PN, Lindhe J, Sterrett JD, Enderoth L.** Considerations on the contribution of ageing to loss of periodontal tissue support. *J Clin Periodontol.* 1991 Sep;18(8):611-5.
- 292 Papapanou PN.** Population studies of microbial ecology in periodontal health and disease. *Ann Periodontol.* 2002 Dec;7(1):54-61
- 293 Papathanasiou E, Teles F, Griffin T, Arguello E, Finkelman M, Hanley J, Theoharides TC.** Gingival crevicular fluid levels of interferon- γ , but not interleukin-4 or -33 or thymic stromal lymphopoietin, are increased in inflamed sites in patients with periodontal disease. *J Periodontal Res.* 2014 Feb;49(1):55-61. doi:10.1111/jre.12078. Epub 2013 Apr 1.

- 294 Patel RA, Wilson RF, Patel PA, Palmer RM.** The effect of smoking on bone healing: A systematic review. *Bone Joint Res.* 2013 Jun 14;2(6):102-11. doi: 10.1302/2046-3758.26.2000142. Print 2013.
- 295 Pauletto NC, Liede K, Nieminen A, Larjava H, Uitto VJ.** Effect of cigarette smoking on oral elastase activity in adult periodontitis patients. *J Periodontol.* 2000 Jan;71(1):58-62.
- 296 Pederson ED, Stanke SR, Whitener SJ, Sebastiani PT, Lamberts BL, Turner DW.** Salivary levels of alpha 2-macroglobulin, alpha 1-antitrypsin, C-reactive protein, cathepsin G and elastase in humans with or without destructive periodontal disease. *Arch Oral Biol.* 1995 Dec;40(12):1151-5.
- 297 Petropoulos G, McKay IJ, Hughes FJ.** The association between neutrophil numbers and interleukin-1alpha concentrations in gingival crevicular fluid of smokers and non-smokers with periodontal disease. *J Clin Periodontol.* 2004 May;31(5):390-5.
- 298 Pierce CSS, Bartholomew WR, Amsterdam D, Neter E, Zambon JJ.** Endocarditis due to *Actinobacillus actinomycetemcomitans* serotype c and patient immune response. *J. Infect. Dis.* 149 (3), 479 (1984)
- 299 Pierre Fauchard.** *Le Chirurgien dentiste ou Traité des dents.* Jean Mariette 1746, 2. Aufl. Band 1 Kap. XXII Seite 264-281.
- 300 Pischon N, Pischon T, Kröger J, Gülmez E, Kleber BM, Bernimoulin JP, Landau H, Brinkmann PG, Schlattmann P, Zernicke J, Buttgereit F, Detert J.** Association among rheumatoid arthritis, oral hygiene, and periodontitis. *J Periodontol* 2008, 79:979-986.
- 301 Pischon N, Röhner E, Hocke A, N'Guessan P, Müller HC, Matziolis G, Kanitz V, Purucker P, Kleber BM, Bernimoulin JP, Burmester G, Buttgereit F, Detert J.** Effects of *Porphyromonas gingivalis* on cell cycle progression and

apoptosis of primary human chondrocytes. *Ann Rheum Dis.* 2009 Dec;68(12):1902-7. Epub 2008 Dec 3.

302 Polyzos NP, Polyzos IP, Mauri D, Tzioras S, Tsappi M, Cortinovia I, Casazza G. Effect of periodontal disease treatment during pregnancy on preterm birth incidence: a metaanalysis of randomized trials. *Am J Obstet Gynecol.* 2009 Mar;200(3):225-32. doi:10.1016/j.ajog.2008.09.020.

303 Pooran N, Indaram A, Singh P, Bank S. Cytokines (IL-6, IL-8, TNF): early and reliable predictors of severe acute pancreatitis. *J Clin Gastroenterol.* 2003 Sep;37(3):263-6.

304 Pradeep AR, Roopa Y, Swati PP. Interleukin-4, a T-helper 2 cell cytokine, is associated with the remission of periodontal disease. *J Periodontal Res.* 2008 Dec;43(6):712-6. doi:10.1111/j.1600-0765.2007.01079.x. Epub 2008 Jun 25.

305 Prakasam S, Srinivasan M. Evaluation of salivary biomarker profiles following non-surgical management of chronic periodontitis. *Oral Dis.* 2014 Mar;20(2):171-7. doi:10.1111/odi.12085. Epub 2013 Mar 18.

306 Preber H, Kant T, Bergström J. Cigarette smoking, oral hygiene and periodontal health in Swedish army conscripts. *J Clin Periodontol.* 1980 Apr;7(2):106-13.

307 Prescher N, Maier K, Munjal SK, Sorsa T, Bauermeister CD, Struck F, Netuschil L. Rapid quantitative chairside test for active MMP-8 in gingival crevicular fluid: first clinical data. *Ann N Y Acad Sci.* 2007 Mar;1098:493-5.

308 Pretorius C, Jagatt A, Lamont RF. The relationship between periodontal disease, bacterial vaginosis, and preterm birth. *J Perinat Med.* 2007;35(2):93-9.

R

- 309 Rahamat-Langendoen JC, van Vonderen MG, Engström LJ, Manson WL, van Winkelhoff AJ, Mooi-Kokenberg EA.** Brain abscess associated with *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*: case report and review of literature. *J Clin Periodontol.* 2011 Aug;38(8):702-706. doi:10.1111/j.1600-051X.2011.01737.x. Epub 2011 May 3.
- 310 Raingeaud J, Pierre J.** Interleukin-4 downregulates TNF α -induced IL-8 production in keratinocytes. *FEBS Lett.* 2005 Jul 18;579(18):3953-9.
- 311 Rakoto-Alson S, Tenenbaum H, Davideau JL.** Periodontal diseases, preterm births, and low birth weight: findings from a homogeneous cohort of women in Madagascar. *J Periodontol.* 2010 Feb;81(2):205-13.
- 312 Ramseier CA, Kinney JS, Herr AE, Braun T, Sugai JV, Shelburne CA, Rayburn LA, Tran HM, Singh AK, Giannobile WV.** Identification of pathogen and host-response markers correlated with periodontal disease. *J Periodontol.* 2009 Mar;80(3):436-46.
- 313 Rathnayake N, Akerman S, Klinge B, Lundegren N, Jansson H, Tryselius Y, Sorsa T, Gustafsson A.** Salivary biomarkers of oral health: a cross-sectional study. *J Clin Periodontol.* 2013 Feb;40(2):140-7. doi:10.1111/jcpe.12038. Epub 2012 Nov 22.
- 314 Rehani K, Scott DA, Renaud D, Hamza H, Williams LR, Wang H, Martin M.** Cotinine-induced convergence of the cholinergic and PI3 kinase-dependent anti-inflammatory pathways in innate immune cells. *Biochim Biophys Acta.* 2008 Mar;1783(3):375-82. doi:10.1016/j.bbamcr.2007.12.003. Epub 2007 Dec 15.
- 315 Reichert S, Machulla HK, Klapproth J, Zimmermann U, Reichert Y, Gläser CH, Schaller HG, Stein J, Schulz S.** The interleukin-10 promoter haplotype

ATA is a putative risk factor for aggressive periodontitis. J Periodontal Res. 2008 Feb;43(1):40-7. doi:10.1111/j.1600-0765.2007.00992.x.

- 316 Reinhardt RA, Stoner JA, Golub LM, Lee HM, Nummikoski PV, Sorsa T, Payne JB.** Association of gingival crevicular fluid biomarkers during periodontal maintenance with subsequent progressive periodontitis. J Periodontol. 2010 Feb; 81(2):251-9. doi:10.1902/jop.2009.090374.
- 317 Remick DG, Villarete L.** Regulation of cytokine gene expression by reactive oxygen and reactive nitrogen intermediates. J Leukoc Biol. 1996 Apr;59(4):471-5.
- 318 Reynolds JJ, Meikle MC.** Mechanisms of connective tissue matrix destruction in periodontitis. Periodontol 2000. 1997 Jun;14:1444-57
- 319 Rieder C, Joss A, Lang NP.** Influence of compliance and smoking habits on the outcomes of supportive periodontal therapy (SPT) in a private practice. Oral Health Prev Dent. 2004;2(2):89-94.
- 320 Robati M, Ranjbari A, Ghafourian Boroujerdnia M, Chinipardaz Z.** Detection of IL-4, IL-6 and IL-12 serum levels in generalized aggressive periodontitis. Iran J Immunol. 2011 Sep;8(3):170-5. doi:IJIV8i3A4.
- 321 Rodrigues DC, Taba MJ, Novaes AB, Souza SL, Grisi MF.** Effect of non-surgical periodontal therapy on glycemic control in patients with type 2 diabetes mellitus. J Periodontol. 2003 Sep;74(9):1361-7.
- 322 Roebuck KA.** Oxidant stress regulation of IL-8 and ICAM-1 gene expression: differential activation and binding of the transcription factors AP-1 and NF-kappaB (Review). Int J Mol Med. 1999 Sep;4(3):223-30.
- 323 Ryder MI, Wu TC, Kallaos SS, Hyun W.** Alterations of neutrophil f-actin kinetics by tobacco smoke: implications for periodontal diseases. J Periodontal Res. 2002 Aug;37(4):286-92.

S

- 324** Sagawa K, Mochizuki M, Sugita S, Nagai K, Sudo T, Itoh K. Suppression by IL-10 and IL-4 of cytokine production induced by two-way autologous mixed lymphocyte reaction. *Cytokine* 1996;8:501-6.
- 325** Salvi GE, Kandylaki M, Troendle A, Persson GR, Lang NP. Experimental gingivitis in type 1 diabetics. A controlled clinical and microbiological study. *J Clin Periodontol* 2005;32:310-316.
- 326** Samson M, Audia S, Janikashvili N, Ciudad M, Trad M, Fraszczak J, Ornetti P, Maillefert JF, Miossec P, Bonnotte B. Inhibition of IL-6 function corrects Th17/Treg imbalance in rheumatoid arthritis patients. *Arthritis Rheum.* 2012 Apr 5. doi:10.1002/art.34477. [Epub ahead of print]
- 327** Sánchez-Hernández PE, Zamora-Perez AL, Fuentes-Lerma M, Robles-Gómez C, Mariaud-Schmidt RP, Guerrero-Velázquez C. IL-12 and IL-18 levels in serum and gingival tissue in aggressive and chronic periodontitis. *Oral Dis.* 2011 Jul;17(5):522-9. doi:10.1111/j.1601-0825.2011.01798.x. Epub 2011 Feb 18.
- 328** Sasaki H, Okamatsu Y, Kawai T, Kent R, Taubman M, Stashenko P. The interleukin-10 knockout mouse is highly susceptible to *Porphyromonas gingivalis*-induced alveolar bone loss. *J Periodontal Res.* 2004 Dec;39(6):432-41.
- 329** Savage A, Eaton KA, Moles DR, Needleman I. A systematic review of definitions of periodontitis and methods that have been used to identify this disease. *Journal of clinical periodontology* 2009;36:458-67.
- 330** Scapoli L, Girardi A, Palmieri A, Carinci F, Testori T, Zuffetti F, Monguzzi R, Lauritano D. IL6 and IL10 are genetic susceptibility factors of periodontal disease. *Dent Res J (Isfahan).* 2012 Dec;9(Suppl 2):S197-201. doi: 10.4103/1735-3327.109754.

- 331 Scarel-Caminaga RM, Trevilatto PC, Souza AP, Brito RB, Camargo LE, Line SR.** Interleukin 10 gene promoter polymorphisms are associated with chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2004 Jun;31(6):443-8.
- 332 Schack SH, Smith PW, Penn RG, Rapoport JM.** Endocarditis caused by *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *J Clin Microbiol.* 1984 Sep;20(3):579-81.
- 333 Schauder S, Bassler BL.** The languages of bacteria. *Genes Dev.* 2001 Jun 15;15(12):1468-80.
- 334 Schmit A, Carol M, Robert F, Bontems P, Houben JJ, Van Gossum A, Goldman M, Mascart F.** Dose-effect of interleukin-10 and its immunoregulatory role in Crohn's disease. *Eur Cytokine Netw.* 2002 Jul-Sep;13(3):298-305.
- 335 Schulze A, Schönauer M, Busse M.** Sudden improvement of insulin sensitivity related to an endodontic treatment. *J Periodontol.* 2007 Dec;78(12):2380-4.
- 336 Sfakianakis A, Barr CE, Kreutzer DL.** *Actinobacillus actinomycetemcomitans*-induced expression of IL-1alpha and IL-1beta in human gingival epithelial cells: role in IL-8 expression. *Eur J Oral Sci.* 2001 Dec;109(6):393-401.
- 337 Sgadari C, Angiolillo AL, Tosato G.** Inhibition of angiogenesis by interleukin-12 is mediated by the interferon-inducible protein 10. *Blood.* 1996 May 1;87(9):3877-82.
- 338 Shahzad A, Knapp M, Lang I, Köhler G.** Interleukin 8 (IL-8) - a universal biomarker? *Int Arch Med.* 2010 Jun 15;3:11. doi:10.1186/1755-7682-3-11.
- 339 Shapira L, van Dyke TE, Hart TC.** A localized absence of interleukin-4 triggers periodontal disease activity: a novel hypothesis. *Med Hypotheses.* 1992 Dec; 39(4):319-22.
- 340 Shapira L, Warbington M, Van Dyke TE.** TNF alpha and IL-1 beta in serum of LJP patients with normal and defective neutrophil chemotaxis. *J Periodontal Res.* 1994 Sep;29(5):371-3.

- 341 Shapira L, Wilensky A, Kinane DF.** Effect of genetic variability on the inflammatory response to periodontal infection. *J Clin Periodontol* 2005;32 Suppl 6:72-86.
- 342 Sharma A, Khattak BP, Naagtilak S, Singh G, Bano T.** Effect of periodontal therapy on salivary interleukin-12 levels in chronic periodontitis. *J Clin Diagn Res.* 2014 Oct;8(10):ZC90-2. doi:10.7860/JCDR/2014/10598.5073. Epub 2014 Oct 20.
- 343 Shchipkova AY, Nagaraja HN, Kumar PS.** Subgingival microbial profiles of smokers with periodontitis. *J Dent Res.* 2010 Nov;89(11):1247-53. doi:10.1177/0022034510377203. Epub 2010 Aug 25.
- 344 Shiau HJ, Reynolds MA. (1)** Sex differences in destructive periodontal disease: a systematic review. *J Periodontol.* 2010 Oct;81(10):1379-89. doi:10.1902/jop.2010.100044.
- 345 Shiau HJ, Reynolds MA. (2)** Sex differences in destructive periodontal disease: exploring the biologic basis. *J Periodontol.* 2010 Nov;81(11):1505-17. doi:10.1902/jop.2010.100045. Epub 2010 Jul 1.
- 346 Shirodaria S, Smith J, McKay IJ, Kennett CN, Hughes FJ.** Polymorphisms in the IL-1A gene are correlated with levels of interleukin-1alpha protein in gingival crevicular fluid of teeth with severe periodontal disease. *J Dent Res.* 2000 Nov;79(11):1864-9.
- 347 Silness J, L  e H.** Periodontal disease in Pregnancy 2: Correlation between oral hygiene and periodontal condition. *Acta Odontol Scand* 1964;22:121-135
- 348 Simek J, Vondrakova J, Faber E, Michl P, Pazdera J, Indrak K.** Saliva as a diagnostic fluid. *Biomed Pap Med Fac Univ Palacky Olomouc Czech Repub.* 2009, 153(2):103-110.
- 349 Simpson TC, Needleman I, Wild SH, Moles DR, Mills EJ.** Treatment of

periodontal disease for glycaemic control in people with diabetes. Cochrane Database Syst Rev. 2010 May 12;(5):CD004714.

- 350 Skaleric U, Schara R, Medvescek M, Hanlon A, Doherty F, Lessem J.** Periodontal treatment by Arestin and its effects on glycemic control in type 1 diabetes patients. J Int Acad Periodontol. 2004 Oct;6(4 Suppl):160-5.
- 351 Slots J, Ashimoto A, Flynn MJ, Li G, Chen C.** Detection of putative periodontal pathogens in subgingival specimens by 16S ribosomal DNA amplification with the polymerase chain reaction. Clin Infect Dis. 1995 Jun;20 Suppl 2:S304-307.
- 352 Slots J, Emrich LJ, Genco RJ, Rosling BG.** Relationship between some subgingival bacteria and periodontal pocket depth and gain or loss of periodontal attachment after treatment of adult periodontitis. J Clin Periodontol. 1985 Aug;12(7):540-52.
- 353 Slots J, Genco RJ.** Black-pigmented Bacteroides species, Capnocytophaga species, and Actinobacillus actinomycetemcomitans in human periodontal disease: virulence factors in colonization, survival, and tissue destruction. J Dent Res. 1984 Mar;63(3):412-21.
- 354 Slots J, Listgarten MA.** Bacteroides gingivalis, Bacteroides intermedius and Actinobacillus actinomycetemcomitans in human periodontal diseases. J Clin Periodontol. 1988 Feb;15(2):85-93.
- 355 Slots J.** Subgingival microflora and periodontal disease. J Clin Periodontol. 1979 Oct;6(5):351-82.
- 356 Slots J.** The predominant cultivable microflora of advanced periodontitis. Scand J Dent Res. 1977 Jan-Feb;85(2):114-21.
- 357 Smith M, Seymour GJ, Cullinan MP.** Histopathological features of chronic and aggressive periodontitis. Periodontol 2000. 2010 Jun;53:45-54.

- 358** Socransky SS, Haffajee AD, Cugini MA, Smith C, Kent RL Jr. Microbial complexes in subgingival plaque. *J Clin Periodontol*. 1998 Feb;25(2):134-44.
- 359** Socransky SS, Haffajee AD, Smith C, Duff GW. Microbiological parameters associated with IL-1 gene polymorphisms in periodontitis patients. *J Clin Periodontol*. 2000 Nov;27(11):810-8.
- 360** Socransky SS, Haffajee AD. Evidence of bacterial etiology: a historical perspective. *Periodontol 2000*. 1994 Jun;5:7-25.
- 361** Sorsa T, Mäntylä P, Rönkä H, Kallio P, Kallis GB, Lundqvist C, Kinane DF, Salo T, Golub LM, Teronen O, Tikanoja S. Scientific basis of a matrix metalloproteinase-8 specific chair-side test for monitoring periodontal and peri-implant health and disease. *Ann N Y Acad Sci*. 1999 Jun 30;878:130-40.
- 362** Sorsa T, Tjäderhane L, Konttinen YT, Lauhio A, Salo T, Lee HM, Golub LM, Brown DL, Mäntylä P. Matrix metalloproteinases: contribution to pathogenesis, diagnosis and treatment of periodontal inflammation. *Ann Med*. 2006;38(5):306-21.
- 363** Souto GR, Queiroz-Junior CM, Costa FO, Mesquita RA. (1) Effect of smoking on immunity in human chronic periodontitis. *Immunobiology*. 2014 Dec; 219(12):909-15. doi:10.1016/j.imbio.2014.08.003. Epub 2014 Aug 10.
- 364** Souto GR, Queiroz-Junior CM, Costa FO, Mesquita RA. (2) Smoking effect on chemokines of the human chronic periodontitis. *Immunobiology*. 2014 Aug; 219(8):633-6. doi:10.1016/j.imbio.2014.03.014. Epub 2014 Apr 1.
- 365** Standiford TJ, Strieter RM, Chensue SW, Westwick J, Kasahara K, Kunkel SL. IL-4 inhibits the expression of IL-8 from stimulated human monocytes. *J Immunol*. 1990 Sep 1;145(5):1435-9.

- 366 Stoltenberg JL, Osborn JB, Pihlstrom BL, Herzberg MC, Aepli DM, Wolff LF, Fischer GE.** Association between cigarette smoking, bacterial pathogens, and periodontal status. *J Periodontol.* 1993 Dec;64(12):1225-30.
- 367 Stríz I, Trebichavský I.** Calprotectin - a pleiotropic molecule in acute and chronic inflammation. *Physiol Res.* 2004;53(3):245-53.
- 368 Sumer AP, Kara N, Keles GC, Gunes S, Koprulu H, Bagci H.** Association of interleukin-10 gene polymorphisms with severe generalized chronic periodontitis. *J Periodontol.* 2007 Mar;78(3):493-7.
- 369 Sun X, Meng H, Shi D, Xu L, Zhang L, Chen Z, Feng X, Lu R.** Analysis of plasma calprotectin and polymorphisms of S100A8 in patients with aggressive periodontitis. *J Periodontal Res.* 2011 Jun;46(3):354-60. doi: 10.1111/j.1600-0765.2011.01350.x. Epub 2011 Apr 4.
- 370 Suryono, Kido J, Hayashi N, Kataoka M, Nagata T.** Effect of Porphyromonas gingivalis lipopolysaccharide, tumor necrosis factor-alpha, and interleukin-1beta on calprotectin release in human monocytes. *J Periodontol.* 2003 Dec;74(12):1719-24.
- 371 Susin C, Dalla Vecchia CF, Oppermann RV, Haugejorden O, Albandar JM.** Periodontal attachment loss in an urban population of Brazilian adults: effect of demographic, behavioral, and environmental risk indicators. *J Periodontol.* 2004 Jul;75(7):1033-41.
- 372 Susin C, Oppermann RV, Haugejorden O, Albandar JM.** Periodontal attachment loss attributable to cigarette smoking in an urban Brazilian population. *J Clin Periodontol.* 2004 Nov;31(11):951-8.
- 373 Svanborg C, Agace W, Hedges S, Lindstedt R, Svensson ML.** Bacterial adherence and mucosal cytokine production. *Ann N Y Acad Sci.* 1994 Aug 15;730:162-81.

T

- 374 Taba M Jr, Kinney J, Kim AS, Giannobile WV.** Diagnostic biomarkers for oral and periodontal diseases. *Dent Clin North Am.* 2005 Jul;49(3):551-71, vi.
- 375 Tabary O, Muselet C, Escotte S, Antonicelli F, Hubert D, Dusser D, Jacquot J.** Interleukin-10 inhibits elevated chemokine interleukin-8 and regulated on activation normal T cell expressed and secreted production in cystic fibrosis bronchial epithelial cells by targeting the I(k)B kinase alpha/beta complex. *Am J Pathol.* 2003 Jan;162(1):293-302.
- 376 Takeuchi Y, Umeda M, Sakamoto M, Benno Y, Huang Y, Ishikawa I.** *Treponema socranskii*, *Treponema denticola*, and *Porphyromonas gingivalis* are associated with severity of periodontal tissue destruction. *J Periodontol.* 2001 Oct; 72(10):1354-63.
- 377 Taylor GW, Burt BA, Becker MP, Genco RJ, Shlossman M, Knowler WC, Pettitt DJ.** Severe periodontitis and risk for poor glycemic control in patients with non-insulin dependent diabetes mellitus. *J Periodontol* 1996;67:1085-1093.
- 378 Teeuw WJ, Gerdes VE, Loos BG.** Effect of periodontal treatment on glycemic control of diabetic patients: a systematic review and meta-analysis. *Diabetes Care.* 2010 Feb;33(2):421-7.
- 379 Teles RP, Likhari V, Socransky SS, Haffajee AD.** Salivary cytokine levels in subjects with chronic periodontitis and in periodontally healthy individuals: a cross-sectional study. *J Periodontal Res.* 2009 Jun;44(3):411-7. doi:10.1111/j.1600-0765.2008.01119.x. Epub 2009 Feb 6.
- 380 Ten Cate JM.** Biofilms, a new approach to the microbiology of dental plaque. *Odontology*;2006;94(1):1-9.
- 381 Tervonen T, Oliver RC.** Long-term control of diabetes mellitus and periodontitis. *J Clin Periodontol* 1993;20:431-435.

- 382 Theilade, E., W. H. Wright, S. B. Jensen, and H. L  e. 1966.** Experimental gingivitis in man. II. A longitudinal clinical and bacteriological investigation. *J. Periodontal Res.* 1:1-13.
- 383 Thomson WM, Broadbent JM, Welch D, Beck JD, Poulton R.** Cigarette smoking and periodontal disease among 32-year-olds: a prospective study of a representative birth cohort. *J Clin Periodontol.* 2007 Oct;34(10):828-34.
- 384 Thunell DH, Tymkiw KD, Johnson GK, Joly S, Burnell KK, Cavanaugh JE, Brogden KA, Guthmiller JM.** A multiplex immunoassay demonstrates reductions in gingival crevicular fluid cytokines following initial periodontal therapy. *J Periodontal Res.* 2010 Feb;45(1):148-52. Epub 2009 Jul 8.
- 385 Tibble JA, Sigthorsson G, Foster R, Forgacs I, Bjarnason I.** Use of surrogate markers of inflammation and Rome criteria to distinguish organic from nonorganic intestinal disease. *Gastroenterology.* 2002 Aug;123(2):450-60.
- 386 Toker H, Poyraz O, Eren K.** Effect of periodontal treatment on IL-1beta, IL-1ra, and IL-10 levels in gingival crevicular fluid in patients with aggressive periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2008 Jun;35(6):507-13. Epub 2008 Mar 26.
- 387 Tomar SL, Asma S.** Smoking-attributable periodontitis in the United States: findings from NHANES III. National Health and Nutrition Examination Survey. *J Periodontol.* 2000 May;71(5):743-51.
- 388 Tonetti MS, D'Aiuto F, Nibali L, Donald A, Storry C, Parkar M, Suvan J, Hingorani AD, Vallance P, Deanfield J.** Treatment of periodontitis and endothelial function. *N Engl J Med.* 2007 Mar 1;356(9):911-20.
- 389 Tonetti MS.** Periodontitis and risk for atherosclerosis: an update on intervention trials. *J Clin Periodontol.* 2009 Jul;36 Suppl 10:15-9.
- 390 Torrungruang K, Bandhaya P, Likittanasombat K, Grittayaphong C.** Relationship between the presence of certain bacterial pathogens and periodontal

status of urban Thai adults. J Periodontol. 2009 Jan;80(1):122-9. doi:10.1902/jop.2009.080248.

- 391** Torrungruang K, Tamsailom S, Rojanasomsith K, Sutdhibhisal S, Nisapakultorn K, Vanichjakvong O, Prapakamol S, Premsirinirund T, Pusiri T, Jaratkulangkoon O, Unkurapinun N, Sritara P. Risk indicators of periodontal disease in older Thai adults. J Periodontol. 2005 Apr;76(4):558-65.
- 392** Totan A, Greabu M, Totan C, Spinu T. Salivary aspartate aminotransferase, alanine aminotransferase and alkaline phosphatase: possible markers in periodontal diseases? Clin Chem Lab Med. 2006;44(5):612-5.
- 393** Toygar HU, Seydaoglu G, Kurklu S, Guzeldemir E, Arpak N. Periodontal health and adverse pregnancy outcome in 3,576 Turkish women. J Periodontol. 2007 Nov;78(11):2081-94.
- 394** Trinchieri G. Interleukin-12 and the regulation of innate resistance and adaptive immunity. Nat Rev Immunol. 2003 Feb;3(2):133-46.
- 395** Trindade SC, Olczak T, Gomes-Filho IS, Moura-Costa LF, Cerqueira EM, Galdino-Neto M, Alves H, Carvalho-Filho PC, Xavier MT, Meyer R. Induction of interleukin (IL)-1 β , IL-10, IL-8 and immunoglobulin G by *Porphyromonas gingivalis* HmuY in humans. J Periodontal Res. 2012 Feb;47(1):27-32. doi:10.1111/j.1600-0765.2011.01401.x. Epub 2011 Aug 17.
- 396** Tryzmel J, Miskolci V, Castro-Alcaraz S, Vancurova I, Davidson D. Interleukin-10 inhibits proinflammatory chemokine release by neutrophils of the newborn without suppression of nuclear factor-kappa B. Pediatr Res. 2003 Sep;54(3):382-6. Epub 2003 Jun 4.
- 397** Tsai C, Hayes C, Taylor GW. Glycemic control of type 2 diabetes and severe periodontal disease in the US adult population. Community Dent Oral Epidemiol. 2002;30:182-192.

- 398 Tsai CC, Ho YP, Chen CC.** Levels of interleukin-1 beta and interleukin-8 in gingival crevicular fluids in adult periodontitis. *J Periodontol.* 1995 Oct;66(10): 852-9.
- 399 Tsai IS, Tsai CC, Ho YP, Ho KY, Wu YM, Hung CC.** Interleukin-12 and interleukin-16 in periodontal disease. *Cytokine.* 2005 Jul 7;31(1):34-40.
- 400 Tymkiw KD, Thunell DH, Johnson GK, Joly S, Burnell KK, Cavanaugh JE, Brogden KA, Guthmiller JM.** Influence of smoking on gingival crevicular fluid cytokines in severe chronic periodontitis. *J Clin Periodontol.* 2011 Mar;38(3): 219-28. doi:10.1111/j.1600-051X.2010.01684.x. Epub 2010 Dec 29.

U

- 401 Uchida Y, Shiba H, Komatsuzawa H, Takemoto T, Sakata M, Fujita T, Kawaguchi H, Sugai M, Kurihara H.** Expression of IL-1 beta and IL-8 by human gingival epithelial cells in response to *Actinobacillus actinomycetemcomitans*. *Cytokine.* 2001 May 7;14(3):152-61.
- 402 Umeda M, Chen C, Bakker I, Contreras A, Morrison JL, Slots J.** Risk indicators for harboring periodontal pathogens. *J Periodontol.* 1998 Oct;69(10): 1111-8.

V

- 403 van der Velden U, Abbas F, Armand S, de Graaff J, Timmerman MF, van der Weijden GA, van Winkelhoff AJ, Winkel EG.** The effect of sibling relationship on the periodontal condition. *J Clin Periodontol.* 1993 Oct;20(9): 683-90.

- 404 van Winkelhoff A.J., van Steenberghe T.J., de Graaff J.:** The role of black-pigmented Bacteroides in human oral infections, 1988, J Clin Periodontol, 15:145-55
- 405 van Winkelhoff AJ, Bosch-Tijhof CJ, Winkel EG, van der Reijden WA.** Smoking affects the subgingival microflora in periodontitis. J Periodontol. 2001 May;72(5):666-71.
- 406 van Winkelhoff AJ, Loos BG, van der Reijden WA, van der Velden U.** Porphyromonas gingivalis, Bacteroides forsythus and other putative periodontal pathogens in subjects with and without periodontal destruction. J Clin Periodontol. 2002 Nov;29(11):1023-8.
- 407 van Winkelhoff AJ, Slots J.** Actinobacillus actinomycetemcomitans and Porphyromonas gingivalis in nonoral infections. Periodontol 2000. 1999 Jun; 122-135
- 408 Vastardis S, Leigh JE, Wozniak K, Yukna R, Fidel PL Jr.** Influence of periodontal disease on Th1/Th2-type cytokines in saliva of HIV-positive individuals. Oral Microbiol Immunol. 2003 Apr;18(2):88-91.
- 409 Verhasselt V, Goldman M, Willems F.** Oxidative stress up-regulates IL-8 and TNF-alpha synthesis by human dendritic cells. Eur J Immunol. 1998 Nov;28(11): 3886-90.
- 410 Vettore MV, Leão AT, Leal Mdo C, Feres M, de Figueiredo LC, Sheiham A.** Periodontal bacterial load: a proposed new epidemiological method for periodontal disease assessment. J Contemp Dent Pract. 2010 Jan 1;11(1):E049-56.
- 411 Vlahopoulos S, Boldogh I, Casola A, Brasier AR.** Nuclear factor-kappaB-dependent induction of interleukin-8 gene expression by tumor necrosis factor alpha: evidence for an antioxidant sensitive activating pathway distinct from nuclear translocation. Blood. 1999 Sep 15;94(6):1878-89.

- 412 Voest EE, Kenyon BM, O'Reilly MS, Truitt G, D'Amato RJ, Folkman J.** Inhibition of angiogenesis in vivo by interleukin 12. *J Natl Cancer Inst.* 1995 Apr 19;87(8):581-6.

W

- 413 Walter C, Saxer UP, Bornstein MM, Klingler K, Ramseier CA.** Einfluss des Tabakkonsums auf das Parodont – ein Update (I). Teil 1: Epidemiologische und pathogenetische Aspekte tabakbedingter Schädigungen am Parodont. *Schweiz Monatsschr Zahnmed.* 2007;117(1):45-60.
- 414 Wang CY, Wang HC, Li JM, Wang JY, Yang KC, Ho YK, Lin PY, Lee LN, Yu CJ, Yang PC, Hsueh PR.** Invasive infections of *Aggregatibacter* (*Actinobacillus*) *actinomycetemcomitans*. *J Microbiol Immunol Infect.* 2010 Dec;43(6):491-7.
- 415 Wang M, Krauss JL, Domon H, Hosur KB, Liang S, Magotti P, Triantafilou M, Triantafilou K, Lambris JD, Hajishengallis G.** Microbial hijacking of complement-toll-like receptor crosstalk. *Sci Signal.* 2010 Feb 16;3(109):ra11. doi: 10.1126/scisignal.2000697.
- 416 Wang P, Wu P, Anthes JC, Siegel MI, Egan RW, Billah MM.** Interleukin-10 inhibits interleukin-8 production in human neutrophils. *Blood.* 1994 May 1;83(9):2678-83.
- 417 Wang P, Wu P, Siegel MI, Egan RW, Billah MM.** Interleukin (IL)-10 inhibits nuclear factor κ B (NF κ B) activation in human monocytes. *J Biol Chem* 1995;270:9558-63.
- 418 Wassell J, Dolwani S, Metzner M, Losty H, Hawthorne A.** Faecal calprotectin: a new marker for Crohn's disease? *Ann Clin Biochem.* 2004 May;41(Pt 3):230-2.
- 419 Wasterlain SN, Cunha E, Hillson S.** Periodontal disease in a Portuguese identified skeletal sample from the late nineteenth and early twentieth centuries.

Am J Phys Anthropol. 2011 May;145(1):30-42. doi:10.1002/ajpa.21464. Epub 2011 Jan 4.

420 Weitkamp JH, Reinsberg J, Bartmann P. Interleukin-8 (IL-8) preferable to IL-6 as a marker for clinical infection. Clin Diagn Lab Immunol. 2002 Nov;9(6):1401.

421 Winans SC, Bassler BL. Mob psychology. J Bacteriol. 2002 Feb;184(4):873-83.

422 Wolff B, Burns AR, Middleton J, Rot A. Endothelial cell "memory" of inflammatory stimulation: human venular endothelial cells store interleukin 8 in Weibel-Palade bodies. J Exp Med. 1998 Nov 2;188(9):1757-62.

423 Wolff L.F., Liljemark W.F., Pihlstrom B.L., Schaffer E.M., Aepli D.M., Bandt C.L.: Dark-pigmented Bacteroides species in subgingival plaque of adult patients on a rigorous recall program, 1988, J Periodontol Res, 23:170-4

424 Wong DT, Lee Y-H. Saliva: An emerging biofluid for early detection of diseases. Am J Dent. 2009 August;22(4):241-248.

X

425 Ximénez-Fyvie LA, Haffajee AD, Socransky SS. Comparison of the microbiota of supra- and subgingival plaque in health and periodontitis. J Clin Periodontol. 2000 Sep;27(9):648-57.

426 Xu LX, Kukita T, Kukita A, Otsuka T, Niho Y, Iijima T. Interleukin-10 selectively inhibits osteoclastogenesis by inhibiting differentiation of osteoclast progenitors into preosteoclast-like cells in rat bone marrow culture system. J Cell Physiol. 1995 Dec;165(3):624-9.

427 Xu M, Scott JE, Liu KZ, Bishop HR, Renaud DE, Palmer RM, Soussi-Gounni A, Scott DA. The influence of nicotine on granulocytic differentiation - inhibition of the oxidative burst and bacterial killing and increased matrix

metalloproteinase-9 release. BMC Cell Biol. 2008 Apr 15;9:19. doi: 10.1186/1471-2121-9-19.

Y

- 428 Yamamoto M, Kawabata K, Fujihashi K, McGhee JR, Van Dyke TE, Bamberg TV, Hiroi T, Kiyono H.** Absence of exogenous interleukin-4-induced apoptosis of gingival macrophages may contribute to chronic inflammation in periodontal diseases. Am J Pathol. 1996 Jan;148(1):331-9.
- 429 Yamazaki K, Nakajima T, Gemmell E, Polak B, Seymour GJ, Hara K.** IL-4- and IL-6-producing cells in human periodontal disease tissue. J Oral Pathol Med. 1994 Sep;23(8):347-53.
- 430 Yang CY, Brooks E, Li Y, Denny P, Ho CM, Qi F, Shi W, Wolinsky L, Wu B, Wong DT, Montemagno CD.** Detection of picomolar levels of interleukin-8 in human saliva by SPR. Lab Chip. 2005 Oct;5(10):1017-23. Epub 2005 Aug 18.
- 431 Yilma AN, Singh SR, Fairley SJ, Taha MA, Dennis VA.** The anti-inflammatory cytokine, interleukin-10, inhibits inflammatory mediators in human epithelial cells and mouse macrophages exposed to live and UV-inactivated Chlamydia trachomatis. Mediators Inflamm. 2012;2012:520174. Epub 2012 Feb 19.
- 432 Yücel OO, Berker E, Gariboğlu S, Otlı H.** Interleukin-11, interleukin-1beta, interleukin-12 and the pathogenesis of inflammatory periodontal diseases. J Clin Periodontol. 2008 May;35(5):365-70. doi:10.1111/j.1600-051X.2008.01212.x.

Z

- 433 Zadeh HH, Nichols FC, Miyasaki KT.** The role of the cell-mediated immune response to Actinobacillus actinomycetemcomitans and Porphyromonas gingivalis in periodontitis. Periodontol 2000. 1999 Jun;20:239-88.

- 434 Zambon JJ, Grossi SG, Machtei EE, Ho AW, Dunford R, Genco RJ.** Cigarette smoking increases the risk for subgingival infection with periodontal pathogens. *J Periodontol.* 1996 Oct;67(10 Suppl):1050-4.
- 435 Zappacosta B, Manni A, Persichilli S, Boari A, Scribano D, Minucci A, Raffaelli L, Giardina B, De Sole P.** Salivary thiols and enzyme markers of cell damage in periodontal disease. *Clin Biochem.* 2007 Jun;40(9-10):661-5. Epub 2007 Jan 26.
- 436 Zhang J, Dong H, Kashket S, Duncan MJ.** IL-8 degradation by *Porphyromonas gingivalis* proteases. *Microb Pathog.* 1999 May;26(5):275-80.
- 437 Zhang X, Teng YT.** Interleukin-10 inhibits gram-negative-microbe-specific human receptor activator of NF-kappaB ligand-positive CD4+-Th1-cell-associated alveolar bone loss in vivo. *Infect Immun.* 2006 Aug;74(8):4927-31.
- 438 Zhong Q, Ding C, Wang M, Sun Y, Xu Y.** Interleukin-10 gene polymorphisms and chronic/aggressive periodontitis susceptibility: a meta-analysis based on 14 case-control studies. *Cytokine.* 2012 Oct;60(1):47-54. doi:10.1016/j.cyto.2012.05.014. Epub 2012 Jun 12.
- 439 Zhou M, Meng HX, Zhao YB, Chen ZB.** Changes of four proinflammatory proteins in whole saliva during experimental gingivitis. *Chin J Dent Res.* 2012;15(2):121-7.
- 440 Zhu L, Zhao Z, Wei Y, Marcotte W Jr, Wagner TE, Yu X.** An IL-12/Shh-C domain fusion protein-based IL-12 autocrine loop for sustained natural killer cell activation. *Int J Oncol.* 2012 Aug;41(2):661-9. doi:10.3892/ijo.2012.1466. Epub 2012 May 8.
- 441 Zhu ZY, Liu GQ.** Changes of IL-8 and TNF-alpha in gingival crevicular fluid before and after treatment from chronic periodontitis. *Chinese journal of cellular and molecular immunology* 2010;26:1111-2.

- 442 Ziebolz D, Pabel SO, Lange K, Krohn-Grimberghe B, Hornecker E, Mausberg RF.** Clinical Periodontal and Microbiologic Parameters in Patients with Rheumatoid Arthritis. *J Periodontol.* 2011 Mar 15.
- 443 Ziebolz D, Schwerdtfeger B, Brunner E, Hornecker E, Mausberg RF.** Mundgesundheits von jungen Frauen und Männern in Deutschland – Ein Vergleich von Angehörigen der Bundeswehr. *Schweiz Monatsschr Zahnmed.* 2008;118(10): 944-50.
- 444 Zimmer S, Pollard V, Marshall GD, Garofalo RP, Traber D, Prough D, Herndon DN.** The 1996 Moyer Award. Effects of endotoxin on the Th1/Th2 response in humans. *J Burn Care Rehabil.* 1996 Nov-Dec;17(6 Pt 1):491-6.

9 Darstellungsverzeichnis

Darstellung	Titel, Quelle	Seite
Darstellung 1	Sondierung eines gesunden Parodonts (G. Klein M.Sc.)	32
Darstellung 2	Sondierung einer tiefen Parodontaltasche (G. Klein M.Sc.)	32
Darstellung 3	Sondierung eines pathologisch veränderten Parodonts bei Vorliegen eines massiven Abbaus knöcherner Strukturen und einer Gingivarezession (G. Klein M.Sc.)	32
Darstellung 4	Formular Parodontalstatus (Schützdruck, 30159 Hannover, Deutschland, Vordr.-Nr. Z 502 1.04)	43
Darstellung 5	Mundhygiene und Entzündungsstatus (GlaxoSmithKline, 77815 Buhl, Deutschland)	44
Darstellung 6	Der Parodontale Screening Index PSI (Kassenzahnärztliche Bundesvereinigung 50931 Köln, Deutschland und Deutsche Gesellschaft für Parodontologie e.V., 93055 Regensburg, Deutschland)	45
Darstellung 7	Herstellung der Standardverdünnungsreihe für das Interleukin-4 (G. Klein M.Sc.)	48
Darstellung 8	Herstellung der Standardverdünnungsreihe für das Interleukin-8 (G. Klein M.Sc.)	51
Darstellung 9	Herstellung der Standardverdünnungsreihe für das Interleukin-10 (G. Klein M.Sc.)	53
Darstellung 10	Herstellung der Standardverdünnungsreihe für das Interleukin-12 (G. Klein M.Sc.)	55
Darstellung 11	Auswertung der Messergebnisse IL-4 (G. Klein M.Sc.)	60
Darstellung 12	Standardkurve für IL-4 (G. Klein M.Sc.)	61
Darstellung 13	Auswertung der Messergebnisse IL-8 (G. Klein M.Sc.)	61
Darstellung 14	Standardkurve für IL-8 (G. Klein M.Sc.)	62
Darstellung 15	Auswertung der Messergebnisse IL-10 (G. Klein M.Sc.)	62
Darstellung 16	Standardkurve für IL-10 (G. Klein M.Sc.)	63
Darstellung 17	Auswertung der Messergebnisse IL-12 (G. Klein M.Sc.)	63
Darstellung 18	Standardkurve für IL-12 (G. Klein M.Sc.)	64

Darstellungsverzeichnis

Darstellung	Titel, Quelle	Seite
Darstellung 19	Erkrankte vs. Gesunde (G. Klein M.Sc.)	65
Darstellung 20	Alter der Probanden (G. Klein M.Sc.)	66
Darstellung 21	Altersverteilung der Probanden (G. Klein M.Sc.)	66
Darstellung 22	Geschlechterverteilung des gesamten Studienkollektivs (G. Klein M.Sc.)	67
Darstellung 23	Parodontitis nach Geschlecht (G. Klein M.Sc.)	68
Darstellung 24	Analyse der Anzahl der Zähne (G. Klein M.Sc.)	69
Darstellung 25	Verteilung der Zahnanzahl (G. Klein M.Sc.)	69
Darstellung 26	Analyse der parodontal betroffenen Sextanten nach PSI (G. Klein M.Sc.)	70
Darstellung 27	Verteilung parodontal erkrankter Sextanten (G. Klein M.Sc.)	70
Darstellung 28	Analyse des Sulkus-Blutungs-Index (G. Klein M.Sc.)	71
Darstellung 29	Verteilung der Werte des Sulkus-Blutungs-Index (G. Klein M.Sc.)	71
Darstellung 30	Analyse des Approximalraum-Plaque-Index (G. Klein M.Sc.)	72
Darstellung 31	Verteilung der Werte des Approximalraum-Plaque-Index (G. Klein M.Sc.)	72
Darstellung 32	Anzahl betroffener Zähne (erkrankte Probanden) (G. Klein M.Sc.)	73
Darstellung 33	Verteilung der betroffenen Zähne (G. Klein M.Sc.)	73
Darstellung 34	Parodontitis und Tabakkonsum (G. Klein M.Sc.)	74
Darstellung 35	Parodontitis und Tabakkonsum - Anzahl der Probanden innerhalb der Gruppen (G. Klein M.Sc.)	74
Darstellung 36	Bivariate Analyse des Interleukin-4 (G. Klein M.Sc.)	75
Darstellung 37	Statistische Verteilung des IL-4 (G. Klein M.Sc.)	75
Darstellung 38	Bivariate Analyse des Interleukin-8 (G. Klein M.Sc.)	76
Darstellung 39	Statistische Verteilung des IL-8 (G. Klein M.Sc.)	76

Darstellungsverzeichnis

Darstellung	Titel, Quelle	Seite
Darstellung 40	Bivariate Analyse des Interleukin-10 (G. Klein M.Sc.)	77
Darstellung 41	Statistische Verteilung des IL-10 (G. Klein M.Sc.)	77
Darstellung 42	Bivariate Analyse des Interleukin-12 (G. Klein M.Sc.)	78
Darstellung 43	Statistische Verteilung des IL-12 (G. Klein M.Sc.)	78
Darstellung 44	Klassifikationsübersicht des Grundmodells (IL-4 auf PA-Gruppen) (G. Klein M.Sc.)	80
Darstellung 45	Vorhersagemodell der Variablen IL-10 und IL-4 auf die Gruppe der Erkrankten (PA ja) und der Gesunden (PA nein) (G. Klein M.Sc.) (G. Klein M.Sc.)	82
Darstellung 46	Klassifikationsübersicht des Test-Modells (IL-10, IL-4 auf Probandengruppen) (G. Klein M.Sc.)	83
Darstellung 47	Klassifikationsübersicht des Test-Modells 2 (Alter, IL-10, IL-4 auf PA Gruppen) (G. Klein M.Sc.)	84
Darstellung 48	Vorhersagemodell der Variablen Alter, IL-10 und IL-4 auf die Gruppen PA ja und PA nein (G. Klein M.Sc.)	85
Darstellung 49	Darstellungsverzeichnis (G. Klein M.Sc.)	186

Darstellung 49

Darstellungsverzeichnis

Danksagung

Besonderen Dank möchte ich an Herrn Prof. Dr. med. Dr. med. habil. Ernst Rainer Weissenbacher für die Überlassung des Dissertationsthemas sowie für die wertvolle und geduldige Unterstützung richten.

Für die Begleitung während des experimentellen Teils dieser Arbeit möchte ich mich bei Frau Dr. Susanne Hoffmann bedanken.

Ganz persönlicher Dank gilt meiner Lebensgefährtin Petra Krause, die mir in den letzten Jahren stets den Rücken frei gehalten, mich mit unendlicher Geduld und Aufopferung unterstützt und mir auf diese Weise sowohl die Praxisgründung als auch die Durchführung der Dissertation ermöglicht hat.

Dank auch an meine verstorbenen Eltern, die mir sehr viel mehr als nur meinen beruflichen Werdegang und die Dissertation ermöglicht haben.

Eidesstattliche Versicherung

Klein, Gerhardt Werner

Name, Vorname

Ich erkläre hiermit an Eides statt, dass ich die vorliegende Dissertation mit dem Thema

Prävalenz der Interleukine IL-4, IL-8, IL-10 und IL-12 im Speichel bei Patienten mit chronischer Parodontitis und einer parodontitisfreien Probandengruppe sowie ihre Bedeutung als diagnostische Parameter

selbstständig verfasst, mich außer der angegebenen keiner weiteren Hilfsmittel bedient und alle Erkenntnisse, die aus dem Schrifttum ganz oder annähernd übernommen sind, als solche kenntlich gemacht und nach ihrer Herkunft unter Bezeichnung der Fundstelle einzeln nachgewiesen habe.

Ich erkläre des Weiteren, dass die hier vorgelegte Dissertation nicht in gleicher oder in ähnlicher Form bei einer anderen Stelle zur Erlangung eines akademischen Grades eingereicht wurde.

München, den 21.01.2017

Ort, Datum

Unterschrift